

Conservation des ressources génétiques du palmier dattier

Florent Engelmann
Physiologiste végétal

Introduction

Il existe deux stratégies pour conserver la diversité génétique : la conservation *in situ* et la conservation *ex situ*, qui sont chacune composées de différentes techniques. L'article 2 de la convention sur la diversité biologique donne les définitions suivantes pour ces deux stratégies de conservation (UNCED 1992) :

- la conservation *ex situ* correspond à la conservation d'éléments constitutifs de la diversité biologique en dehors de leur milieu naturel ;
- la conservation *in situ* correspond à la conservation des écosystèmes et des habitats naturels et le maintien et la reconstitution de populations viables d'espèces dans leur milieu naturel et, dans le cas des espèces domestiquées et cultivées, dans le milieu où se sont développés leurs caractères distinctifs.

La conservation *ex situ* est particulièrement appropriée pour la conservation des plantes cultivées et de leurs espèces apparentées sauvages, et la conservation *in situ* pour celle des espèces sauvages et des races locales à la ferme.

De nombreuses espèces végétales, parmi les plantes alimentaires majeures, produisent des semences qui présentent une phase de déshydratation intense en fin de maturation. Elles sont donc tolérantes à une déshydratation intense et peuvent être conservées à basse température à l'état déshydraté. Les semences de telles espèces sont nom-

mées orthodoxes (Roberts, 1973). Le stockage des semences orthodoxes est la méthode la plus largement utilisée de conservation *ex situ* des ressources phytogénétiques, puisque 90 % des 6,1 millions d'accessions stockées dans les banques de gènes sont conservées sous la forme de semences. Par opposition aux semences orthodoxes, un nombre considérable d'espèces, principalement d'origine tropicale ou subtropicale, tels le cocotier, le cacaoyer ou de très nombreux arbres fruitiers ou forestiers produisent des semences qui présentent une phase de déshydratation très faible en fin de maturation, et qui sont donc disséminées à des teneurs en eau relativement élevées. De telles semences ne peuvent résister à la déshydratation et elles sont souvent sensibles au froid. Elles ne peuvent donc pas être conservées dans les conditions de stockage traditionnelles des semences, c'est-à-dire à basse température avec une teneur en eau réduite. Ces semences, qualifiées de récalcitrantes, doivent être conservées dans des conditions d'humidité et de température relativement élevées pour maintenir leur viabilité (Roberts, 1973). Cependant, même lorsqu'elles sont stockées dans des conditions optimales, leur viabilité est limitée à quelques semaines ou mois. Il existe d'autres espèces dont la conservation sous forme de semences pose des problèmes. Tout d'abord, certaines espèces ne produisent pas de semences et sont par conséquent propagées de manière végétative, comme le bananier et le plantain (*Musa* sp.). Ensuite, il existe de nombreuses espèces qui ont : soit des génotypes stériles, soit des génotypes qui produisent des semences orthodoxes. Cependant, ces semences sont hétérozygotes et ne peuvent donc pas être utilisées pour la conservation de génotypes particuliers. Ces plantes sont généralement propagées de manière végétative pour maintenir les génotypes sous la forme de clones.

Traditionnellement, les espèces dont la conservation pose des problèmes sont conservées *ex situ* sous forme de collections en champ. Cette méthode, si elle offre des avantages certains, présente cependant des inconvénients qui limitent son efficacité et menacent sa sécurité (Engelmann, 1997). Les ressources génétiques de ces espèces sont exposées aux ravageurs et aux maladies, aux calamités naturelles comme la sécheresse ou les ouragans, aux erreurs humaines et au vandalisme. De plus, elles ne sont pas sous une forme qui facilite les échanges de matériel génétique à cause des risques élevés de transfert de maladies lors de l'échange de matériel végétatif.

Les collections en champ sont coûteuses à maintenir et, par conséquent, elles sont à la merci de décisions économiques qui peuvent limiter le niveau de réplification des accessions, la qualité de leur entretien et même leur survie en cas de difficultés économiques. Même dans les meilleures conditions, les collections en champ nécessitent des intrants considérables sous forme de terrain, main d'œuvre, gestion, matériel et, de plus, leur capacité à conserver une diversité importante est limitée.

Au vu de ces problèmes, il n'est pas surprenant que des efforts aient été faits pour améliorer la qualité et la sécurité de la conservation offertes par les collections en champ et pour comprendre et régler les problèmes causés par la récalcitrance des semences, afin de rendre le stockage des semences plus largement applicable. Cependant, il est clair que des approches alternatives sont nécessaires pour la conservation des ressources génétiques des matériels qui posent des problèmes et, depuis les années 1970, l'attention s'est tournée vers les possibilités offertes par les biotechnologies, et de manière plus spécifique, la culture *in vitro* et la cryoconservation.

Biotechnologies pour la conservation de la biodiversité végétale

Au cours des trente dernières années, les techniques de culture *in vitro* se sont largement développées et elles ont été appliquées à plus de 1 000 espèces différentes (George, 1993a et b). Les techniques de cultures de tissus sont d'un grand intérêt pour la collecte, la multiplication et la conservation du matériel génétique (Engelmann, 1991 ; Pence *et al.*, 2002). Les systèmes de culture de tissus permettent de propager le matériel végétal avec des taux de multiplication élevés, dans un environnement aseptique. Des plantes exemptes de virus peuvent être obtenues par culture de méristèmes en combinaison avec la thérapie thermique, ce qui permet la production de stocks exempts de virus et simplifie les procédures de quarantaine pour l'échange international de matériel génétique. La miniaturisation

des explants permet de réduire l'espace nécessaire pour la conservation, et, par conséquent, de réduire les coûts de main d'œuvre pour l'entretien des collections. Différentes techniques de conservation *in vitro* sont utilisées selon la durée de stockage recherchée (Engelmann, 1991). Pour le stockage à court et moyen terme, on utilise les techniques de conservation en croissance ralentie. Pour la conservation à long terme, la cryoconservation, c'est-à-dire le stockage à température ultra basse, généralement celle de l'azote liquide (-196 °C), est la seule méthode utilisable. Les techniques de conservation en croissance ralentie et de cryoconservation sont décrites dans les sections suivantes.

Conservation en croissance ralentie

Pour la croissance en vie ralentie, la technique la plus largement utilisée est la réduction de la température qui peut être combinée avec une diminution de l'intensité lumineuse ou avec une culture à l'obscurité. Des températures de l'ordre de 0-5 °C sont employées pour les espèces tolérantes au froid. Les espèces tropicales sensibles au froid, doivent être conservées à des températures plus élevées, qui dépendent de la sensibilité au froid de l'espèce. Diverses modifications peuvent également être apportées au milieu de culture afin de ralentir la croissance (Withers et Engelmann, 1998). Les techniques de stockage *in vitro* en croissance ralentie sont utilisées en routine pour la conservation à moyen terme de nombreuses espèces, à la fois d'origine tropicale et tempérée, comme la pomme de terre, les *Musa*, l'igname et le manioc (Engelmann, 1999). En 1996, la FAO recensait environ 38 000 accessions conservées *in vitro* en vie ralentie (FAO, 1996). Cependant, si la conservation *in vitro* semble une option simple et pratique pour la conservation à moyen terme de nombreuses espèces, son utilisation nécessite une adaptation à chaque nouveau matériel ainsi que des intrants continus, et des questions se posent quant à la stabilité génétique du matériel stocké pour certaines espèces. Des directives techniques ont été publiées récemment (Reed *et al.*, 2004), qui peuvent servir de guide aux chercheurs et gestionnaires des banques de gènes pour l'établissement et la gestion des collections *in vitro* de ressources génétiques.

La cryoconservation

A la température de l'azote liquide, toutes les divisions cellulaires sont stoppées et le métabolisme arrêté. Le matériel végétal peut ainsi être conservé sans altération ni modification pendant des durées théoriquement illimitées. De plus, les cultures sont stockées dans un volume réduit, à l'abri des contaminations et avec un entretien limité. Il est important de réaliser que la cryoconservation est la seule technique disponible à l'heure actuelle permettant la conservation économique et en sécurité des ressources génétiques du matériel végétal dont la conservation pose des problèmes.

Certains matériels, comme les semences orthodoxes ou les bourgeons dormants, présentent des processus naturels de déshydratation et peuvent être cryoconservés sans aucun prétraitement. Cependant, la plupart des systèmes expérimentaux employés en cryoconservation (bourgeons, embryons, suspensions ou cals) contiennent des quantités d'eau intracellulaire élevées et sont donc extrêmement sensibles à la congélation puisqu'ils ne sont pas naturellement tolérants à la déshydratation. Les cellules doivent donc être déshydratées artificiellement pour les protéger des dégâts causés par la cristallisation de l'eau intracellulaire pour former de la glace. Les techniques employées et les mécanismes physiques sur lesquels elles reposent sont différents dans les techniques de cryoconservation classiques et nouvelles (Withers et Engelmann, 1998). Les techniques classiques sont basées sur la déshydratation pendant la congélation, alors que les nouvelles techniques sont basées sur la vitrification. La vitrification peut être définie comme la transition de l'eau directement de la phase liquide en une phase amorphe ou verre, en évitant la formation de glace cristalline dommageable pour l'intégrité cellulaire. Les techniques de cryoconservation classiques ont été appliquées avec succès aux systèmes indifférenciés comme les suspensions cellulaires et les cals (Withers et Engelmann, 1998). Dans le cas des cultures différenciées, ces techniques peuvent être employées seulement pour la congélation d'apex d'espèces tolérantes au froid. Dans les procédures basées sur la vitrification, la déshydratation cellulaire est réalisée avant la congélation en exposant les échantillons à des solutions cryoprotectrices extrêmement concentrées ou à la dessiccation physique. La déshydratation est suivie par la congélation. Avec ces

techniques, tous les problèmes liés à la formation de glace intracellulaire sont évités. Les procédures basées sur la vitrification offrent des avantages pratiques par rapport aux techniques classiques. Elles sont plus appropriées aux organes complexes comme les bourgeons ou les embryons qui ont une structure histologique hétérogène. En empêchant la formation de glace dans le système, les protocoles basés sur la vitrification sont de mise en œuvre moins complexe que les protocoles classiques (ils ne nécessitent pas de congélateurs programmables) et ils ont un potentiel d'applicabilité beaucoup plus large (Engelmann, 1997). Sept différentes techniques basées sur la vitrification ont été mises au point : encapsulation-déshydratation, vitrification, encapsulation-vitrification, déshydratation, préculture, préculture-déshydratation, congélation et gouttes et vitrification en gouttes (Engelmann, 2004 ; Gonzalez-Arno et Engelmann, 2006 ; Sakai et Engelmann, 2007). Ces nouvelles techniques ont été utilisées pour la cryoconservation de bourgeons et d'embryons de nombreuses espèces végétales d'origine tropicale et tempérée (Engelmann et Takagi, 2000 ; Reed, 2008).

Bien que leur utilisation en routine soit encore limitée, il existe un nombre croissant d'exemples pour lesquels la cryoconservation est employée à grande échelle avec différents types de matériels qui sont, ou non, tolérants à la dessiccation, qui comprennent des semences d'espèces orthodoxes ou récalcitrantes, des bourgeons dormants, du pollen, des produits des biotechnologies et des bourgeons prélevés sur des vitroplants (Engelmann, 2009). Ceci a été rendu possible par le développement des nouvelles techniques basées sur la vitrification a rendu possible son application à une large gamme d'espèces (Engelmann, 2004). Un avantage important des ces nouvelles techniques est leur simplicité de mise en œuvre, puisqu'elles sont destinées à être utilisées dans les pays tropicaux, dans lesquels la plus grande partie des ressources génétiques des espèces posant des problèmes de conservation est située. Pour un nombre non négligeable d'espèces à multiplication végétative, les techniques de cryoconservation sont suffisamment avancées pour pouvoir envisager leur utilisation immédiate en routine dans les banques de gènes. Les recherches sont nettement moins avancées pour les espèces à semences récalcitrantes. Ceci est dû au nombre très important de ces espèces, qui sont principalement sauvages, et au nombre limité d'activités de recherche visant à améliorer leur

conservation. Cependant, il existe différentes approches techniques pour améliorer leur efficacité et augmenter leur applicabilité aux espèces récalcitrantes. De plus, des recherches sont activement conduites par différents groupes dans le monde pour augmenter les connaissances sur les mécanismes biologiques et physiques sur est basée la récalcitrance. Des résultats nouveaux sur des points clé comme la compréhension et le contrôle de la sensibilité à la dessiccation contribueront de manière significative au développement de techniques de cryoconservation améliorées pour les espèces à semences récalcitrantes. A ce sujet, il est intéressant de mentionner qu'un projet COST (*European cooperation in the field of scientific and technical research* financé par l'Union européenne (Action COST 871 : *Cryopreservation of crop species in Europe*) a été initié récemment. Cette action vise notamment à accroître les connaissances fondamentales sur la cryoprotection par la détermination des changements physico-biochimiques associés à la tolérance à la cryoconservation et à développer et à appliquer de nouveaux protocoles de cryoconservation. Pour plus d'informations, le site Web <http://www.biw.kuleuven.be/dtp/tro/cost871/Home.htm> peut être consulté. On peut donc attendre de manière réaliste que dans les années qui viennent, notre compréhension des mécanismes impliqués dans la cryoconservation augmente et que la cryoconservation devienne plus fréquemment employée pour la conservation à long terme des ressources phytogénétiques.

Conservation des ressources génétiques du palmier dattier

Le palmier dattier joue un rôle clé dans l'écologie des zones arides et désertiques du Maghreb, du Sahara, de la péninsule arabique, ainsi qu'en Iran et jusque dans la vallée de l'Indus au Pakistan. Il a une très grande importance économique et sociologique pour les populations de ces régions, à la fois par sa production propre (dattes et autres produits) et en permettant le développement d'une agriculture oasienne.

Techniques classiques de conservation

On connaît plus de 2 000 variétés de dattiers, mais nombre d'entre-elles ont un rendement faible et leurs fruits sont de mauvaise qualité (Zaid *et al.*, 2002). Selon ces auteurs, le nombre de variétés ayant un rendement acceptable est sans doute inférieur à 50, et 25 à 50 % de celles-ci ont un intérêt commercial. Cependant, malgré leur faible rendement, ces variétés ont souvent une valeur culturelle et sociologique élevée, et elles peuvent également présenter des caractères intéressants d'adaptation à des conditions particulières et de résistance aux maladies. La diversité génétique du palmier dattier est traditionnellement conservée *in situ* dans les palmeraies sauvages ou entretenues par l'homme. Il est cependant reconnu que les ressources génétiques de cette espèce sont menacées, du fait de la dissémination à grande échelle d'un nombre restreint de variétés d'intérêt commercial (Jaradat, 2006). L'identification précise, la caractérisation et la conservation de ces ressources génétiques ont été identifiées comme une priorité importante par les membres du Date Palm Biotechnology Network (Zaid *et al.*, 2002).

Pour ce qui concerne la conservation *ex situ* du palmier dattier, le Directory of Germplasm Collections de l'IBPGR (Bettencourt *et al.*, 1992) fait état de collections en champ en Algérie, Brésil, République dominicaine, France, Inde, Iran, Irak, Maroc, Nigeria, Afrique du Sud, Soudan, Taiwan et aux USA. D'autres publications plus récentes font référence à l'établissement d'autres banques de gènes, telles que la banque du Sultanat d'Oman qui comporte 187 variétés (Al-Yahyai et Al-Khanjari, 2008).

Les semences du palmier dattier sont classifiées comme orthodoxes vis-à-vis de leur conservation (Hong *et al.*, 1996). Nixon (1964) a indiqué qu'elles pouvaient être conservées 15 ans à température ambiante. Plus récemment, Sallon *et al.* (2008) ont obtenu la germination d'une semence de dattier âgée de 2 000 ans. Cependant, ces semences sont hétérozygotes et ne sont donc que d'un intérêt limité puisqu'elles ne permettent que la conservation de gènes et non de génotypes particuliers.

Des essais de conservation de pollen ont également été réalisés. Ainsi, Boughediri *et al.* (1995) ont montré que la viabilité de pollen de palmier dattier au bout de 230 jours de stockage était supérieure

lorsque la conservation avait lieu à 4 °C en présence de CaCl₂, par rapport à une conservation à 4 °C, à -20 °C ou après lyophilisation. Plus récemment, El-Mardi *et al.* (2000) ont montré, qu'après 12 mois, la viabilité était supérieure pour une température de stockage de 4-5 °C par rapport à -18 °C ou 23-25 °C.

Biotechnologies et conservation du palmier dattier

Les biotechnologies ont été utilisées pour conserver du matériel cultivé *in vitro* et du pollen de palmier dattier.

Conservation en croissance ralentie

À notre connaissance, il n'existe qu'un seul rapport sur la conservation en croissance ralentie de cultures *in vitro* de palmier dattier. Bekheet *et al.*, (2002) ont indiqué que des cals et des vitroplants du cv Zaghlool ont pu être conservés à 5 °C à l'obscurité pendant 12 mois sur un milieu enrichi en sorbitol.

Cryoconservation

Chez le palmier dattier, les premiers travaux de cryoconservation ont été réalisés en utilisant des techniques de congélation classiques. Tisserat *et al.* (1981) et Ulrich *et al.* (1982) ont congelé des cals embryogènes des variétés Medjool, Deglet Noor et Khadrawy. Après un prétraitement avec un mélange de polyéthylène glycol, diméthylsulfoxyde (DMSO) et de glucose et une congélation lente jusqu'à -30 °C, des plantules ont pu être régénérées à partir des cals congelés. La survie est beaucoup plus élevée pour les variétés Deglet Noor et Khadrawy que pour Medjool. Des bourgeons prélevés sur des vitroplants des variétés Bou Sthammi noir, Zahidi et Nabut Seif ont été cryoconservés en utilisant un traitement cryoprotecteur avec du saccharose et du DMSO suivi d'une congélation lente jusqu'à -40 °C (Bagniol et Engelmann 1991). Les pourcentages de survie obtenus variaient entre 11,8 et 48,2 %, et la reprise de croissance des apex était lente, la structure des apex étant fortement altérée par la cryoconservation, comme l'ont montré les études histologiques réalisées (Bagniol *et al.*, 1992).

Les nouvelles techniques de cryoconservation, basées sur la vitrification, ont également été expérimentées avec le palmier dattier. Mycock *et al.* (1995) ont ainsi congelé avec succès des embryons somatiques en utilisant un prétraitement avec du glycérol et du DMSO, suivi d'une déshydratation partielle jusqu'à 0,4 - 7,7 g H₂O/g MS. L'addition de calcium et de magnésium dans le mélange cryoprotecteur a permis d'améliorer la qualité de la reprise, en diminuant la callogenèse et en augmentant le nombre d'embryons pouvant cryoconservés produisant des plantules (Mycock, 1999).

Plus récemment, des cals nodulaires de la variété Zaghlool ont été cryoconservés en utilisant les techniques de préculture-déshydratation et de vitrification (Bekheet *et al.*, 2007). Avec la préculture-déshydratation, les conditions optimales, permettant une survie de 80 %, étaient les suivantes : prétraitement avec un milieu contenant 1 M de saccharose, dessiccation jusqu'à 65,8 % de teneur en eau puis congélation rapide. Avec la vitrification, une survie de 70 % a été obtenue après traitement des cals avec une solution de vitrification composée de glycérol, éthylène glycol, polyéthylène glycol et DMSO pendant 80 min à 0 °C. Enfin, Fki *et al.* (2008) ont obtenu 70 % de survie après congélation de masses proembryogènes de la variété Barhee en utilisant la vitrification en gouttes, avec un traitement des échantillons pendant 30 min avec la solution de vitrification PVS2 avant la congélation.

La cryoconservation a également été testée avec des semences et du pollen de palmier dattier. Ainsi, Al-Madeni et Tisserat (1986) rapportent que des semences ayant une teneur en eau de 7,8 % pouvaient être stockées 546 jours à 0 °C, -20 °C ou -196 °C sans perte de viabilité. Tisserat *et al.* (1985) ont obtenu le développement des fruits et des rendements identiques en utilisant du pollen non-congelé et cryoconservé.

Conclusion

En conclusion, l'importance d'organiser et de réaliser au niveau international la conservation des ressources génétiques du palmier dattier a été soulignée par plusieurs auteurs (Jaradat, 1995, 2006 ;

Zaid *et al.*, 2002), afin d'éviter la perte de variétés traditionnelles, menacées par la dissémination à grande échelle d'un petit nombre de variétés commerciales. Il est maintenant reconnu qu'une stratégie de conservation appropriée pour un pool génétique particulier nécessite une approche holistique, qui combine les différentes techniques de conservation *in situ* et *ex situ* disponibles de manière complémentaire (Maxted *et al.*, 1997). La sélection des méthodes appropriées doit être basée sur un ensemble de critères, incluant la nature biologique de l'espèce considérée, la faisabilité des méthodes particulières choisies (qui dépendent de la disponibilité des infrastructures adéquates), de même que la sécurité et la rentabilité économique apportées par leur application. Les aspects de complémentarité en ce qui concerne l'efficacité et le coût des différentes méthodes de conservation choisies sont aussi importants. Dans de nombreux cas, le développement des stratégies complémentaires de conservation appropriées nécessitera encore des recherches supplémentaires pour définir les critères, optimiser les méthodes et tester leur application pour une gamme de pools génétiques et situations. Nous avons montré dans cet article que les biotechnologies offrent des potentialités intéressantes pour contribuer à améliorer la conservation des ressources génétiques du palmier dattier, avec le développement des techniques de propagation *in vitro* et de cryoconservation. Dans ce contexte, il est important de souligner que ces nouvelles techniques de conservation *in vitro* ne sont pas perçues comme étant destinées à remplacer les approches conventionnelles de conservation *ex situ*. Elles offrent aux gestionnaires des banques de gènes des outils supplémentaires pour leur permettre d'améliorer la conservation du matériel génétique placé sous leur responsabilité.

Bibliographie

AL-MADENI M. A., TISSERAT B., 1986 – Survival of palm seeds under cryogenic conditions. *Seed Sci. Technol.*, 14 : 79-85.

AL-YAHYAI R., AL-KHANJARI S., 2008 – Biodiversity of date palm in the Sultanate of Oman. *Afr. J. Agric. Res.*, 3 : 389-395.

BAGNIOL S., ENGELMANN F., 1991 – Effects of pretreatment and freezing conditions on the resistance of meristems of date palm (*Phoenix dactylifera* L. var. Bou Sthammi noir) to low temperatures and to freezing in liquid nitrogen. *CryoLetters*, 12 : 279286.

- BAGNIOL S., ENGELMANN F., MICHAUX FERRIÈRE N., 1992 – Histocytological study of apices from *in vitro* plantlets of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) during a cryopreservation process. *CryoLetters*, 13 : 405-412.
- BEKHEET S.A., TAHA H.S., SAKER M. M., 2002 – *In vitro* long-term storage of date palm. *Biol. Plant.*, 45 : 121-124.
- BEKHEET, S. A. TAHA, H. S. SAKER, M. M. SOLLIMAN, M. E., 2007 – Application of cryopreservation technique for *in vitro* grown date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultures. *J. Appl. Sci. Res. Sept. Issue* : 859-866.
- BETTENCOURT E., HAZEKAMP T., PERRY M. C., 1992 – *IBPGR Directory of Germplasm Collections. 6.1 Tropical and Subtropical Fruits and Tree Nuts: Annona, Avocado, Banana and Plantain, Breadfruits, Cashew, Citrus, Date, Fig, Guava, Mango, Passionfruit, Papaya, Pineapple and others*, IBPGR (éds.), Rome.
- BOUGHEDIRI L., CERCEAU-LARRIVAL M. T., DORE J. C., 1995 – Significance of freeze-drying in long term storage of date palm pollen. *Grana.*, 34 (6) : 408-412.
- EL-MARDI M.O., BAKHEIT C.S., AL-KHAROUSI L., AL-MANTHERI O.S., 2000 – Factors regulating *in vitro* germination of date palm pollen grains after storage. *Sultan Qaboos Univ. J. Sci. Res. – Agric. Sci.*, 5 : 19-23.
- ENGELMANN F., 1991 – *In vitro* conservation of tropical plant germplasm – a review. *Euphytica*, 57 : 227-243.
- ENGELMANN F. 1997 – « *In vitro* conservation methods ». *In : Biotechnology and plant genetic resources : conservation and use*. Wellington, CABI Ford-Lloyd BV, Newbury JH, Callow JA eds. : 119-162.
- ENGELMANN F., 1999 – *Management of Field and in vitro Germplasm Collections, Proceedings of a Consultation Meeting - 15-20 January, 1996, CIAT, Cali, Colombia*. Rome : International Plant Genetic Resources Institute.
- ENGELMANN F., 2004 – Plant cryopreservation: progress and prospects. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 40 : 427-433.
- ENGELMANN F., 2009 – Use of biotechnologies for conserving plant biodiversity. *Acta Hortic.*, 812 : 63-82.
- ENGELMANN F., TAKAGI H., 2000 – *Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm - Current Research Progress and Applications*, JIRCAS, Tsukuba/IPGRI, Rome.
- FAO., 1996 – *Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*. Rome, Food and agriculture organization of the United Nations.
- FKI L., BOUAZIZ N., PANIS B., DRIRA N., 2008 – « La technique de congélation en gouttes des masses proembryogènes : un moyen efficace pour la conservation des ressources génétiques phoenicicoles ». *In : Biotech2008 X^e Journées Scientifiques du réseau « Biotechnologies végétales/Amélioration des plantes et sécurité alimentaire » de l'Agence universitaire de la Francophonie, Biotechnologies végétales et gestion durable des résistances face à des stress biotiques et abiotiques* 30 juin-3 juillet 2008, Agrocampus Rennes, Rennes, France.
- GEORGE E. F., 1993a – *Plant propagation by tissue culture. Part 1. The Technology*, Second edition, Edington, Exegetics Ltd.

- GEORGE E. F., 1993b – *Plant propagation by tissue culture. Part 2. In Practice*, Second Edition, Edington, Exegetics Ltd.
- GONZALEZ-ARNAO M. T., ENGELMANN F., 2006 – Cryopreservation of plant germplasm using the encapsulation-dehydration technique : review and case study on sugarcane. *CryoLetters*, 27 : 155-168.
- HONG T.D., LININGTON S., ELLIS R.H., 1996 – *Seed Storage Behaviour: a Compendium*. Handbooks for genebanks N° 4, International plant genetic resources institute, Rome.
- JARADAT A. A., 1995 – Modern agriculture endangers rich fruit and nut reservoir of the Mediterranean Basin. *Diversity*, 11 : 127-128.
- JARADAT A., 2006 – « Date palms of Arabia : a multifunctional genetic resource ». *In Abst. International Conference on Date Palm Production and Processing Technology*. May 9-11, 2006, Muscat, Oman. p. 8.
- MAXTED N., FORD-LLOYD B.V., HAWKES J.G., 1997 – *Complementary conservation strategies*. In *Plant Genetic Resources Conservation* (N. Maxted, B.V. Ford-Lloyd and J.G. Hawkes, eds.). Chapman & Hall, London : 15-39
- MYCOCK D. J., WESLEY-SMITH J., BERJAK P., 1995 – Cryopreservation of somatic embryos of four species with and without cryoprotectant pre-treatment. *Annals of Botany*, 75 : 331-336.
- MYCOCK D., 1999 – Addition of calcium and magnesium to a glycerol and sucrose cryoprotectant solution improves the quality of plant embryo recovery from cryostorage. *CryoLetters*, 20 : 77-82.
- NIXON R.W., 1964 – Viability of date seeds in relation to age. *Date Growers' Institute Report*, 41 : 3-4.
- PENCE V.C., SANDOVAL J., VILLALOBOS V., ENGELMANN F., 2002 – *In Vitro Collecting Techniques for Germplasm Conservation*. IPGRI Technical Bulletin N° 7. Rome, IPGRI.
- REED B.M., 2008 – *Plant Cryopreservation – A Practical Guide*. New York : Springer.
- REED B.M., ENGELMANN F., DULLOO M.E., ENGELS J.M.M., 2004 – *Technical Guidelines for the Management of Field and In Vitro Germplasm Collections*. Handbook for Genebanks N° 7. Rome, IPGRI/SGRP.
- ROBERTS H.F., 1973 – Predicting the viability of seeds. *Seed Sci. Technol.*, 1 : 499-514.
- SAKAI A., ENGELMANN F., 2007 – Vitrification, encapsulation-vitrification and droplet-vitrification: a review. *CryoLetters*, 28 : 151-172.
- SALLON S., SOLOWEY E., COHEN Y., KORCHINSKY R., EGLI M., WOODHATCH I., SIMCHONI O., KISLEV M., 2008 – Germination, genetics and growth of an ancient date seed. *Science*, 320 : 1464.
- TISSERAT B., GABR M. F., SABOUR M. T., 1985 – Viability of cryogenically treated date palm pollen. *Date Palm J.*, 4 : 25-31.
- TISSERAT B., ULRICH J. M., FINKLE B. J., 1981 – Cryogenic preservation and regeneration of date palm tissue. *HortSci.*, 16 : 1.
- ULRICH J. M., FINKLE B. J., TISSERAT B., 1982 – Effect of cryogenic treatment on plantlet production from frozen and unfrozen date palm callus. *Plant Physiol.*, 69 : 624-627.

UNCED, 1992 –
Convention on Biological Diversity.
United Nations Conference on
Environment and Development,
Genève.

WITHERS L. A., ENGELMANN F., 1998 –
In vitro conservation of plant genetic
resources. In : Altman A, ed.
Biotechnology in Agriculture.
New York, Marcel Dekker Inc : 57-88.

ZAID A., ARIAS E. J., TAHER F., 2002 –
Date Palm Global Network.
Project Document.
<http://dpgn.uaeu.ac.ae/index.htm>.



Colloques et séminaires

Biotechnologies du palmier dattier

Éditrice scientifique
Frédérique Aberlenc-Bertossi

IRD
Éditions

Actes du 3^e Séminaire du réseau AUF-BIOVEG
« Biotechnologies du palmier dattier »
Montpellier (France), 18-20 novembre 2008

Biotechnologies du palmier dattier

Éditrice scientifique
Frédérique Aberlenc-Bertossi

IRD Éditions
INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DÉVELOPPEMENT

collection Colloques et séminaires

Paris, 2010

Préparation des textes

Sylvie Doulbeau

Mise en page

Bill Production

Fabrication

Catherine Plasse

Maquette de couverture

Michelle Saint-Léger

Maquette intérieure

Catherine Plasse

Photo de couverture

IRD/F. Aberlenc-Bertossi : « *Palmeraies, Tozeur (Tunisie).* »

La loi du 1^{er} juillet 1992 (code de la propriété intellectuelle, première partie) n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article L. 122-5, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans le but d'exemple ou d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (alinéa 1^{er} de l'article L. 122-4).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon passible des peines prévues au titre III de la loi précitée.

© IRD, 2010

ISSN : 0767-2896

ISBN : 978-2-7099-1691-2