

## Études morphologique et histologique du développement de l'ovaire chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

### [ Morphological and histological studies of the development of the ovary in the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) ]

*Saliha Meliani*<sup>1-2-3</sup>, *Nadia Bouguedoura*<sup>2</sup>, and *Malika Bennaceur*<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Laboratoire de Biochimie Végétale, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algeria

<sup>2</sup>Département de Biologie et Physiologie des Organismes, Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Algeria

<sup>3</sup>Département des sciences de la nature et de la vie, Université de M'sila Mohamed Boudiaf, Algeria

---

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** Floral morphology of the date palm was studied to complement the knowledge of its floral structure and trace the evolution of single carpel fruit. This results in the morphological transformation of the ovary, consisting of three carpels, mortification style, and the degeneration of the twin carpels. The morpho-histological changes are monitored before and after pollination. The three carpels have very specific positions relative to the petals. Carpel two twin white and of the same size are carried by the same petal. They are different from the third carpel worn only by the 3rd petal. Development continues, the size of the third carpel becomes larger than twins carpel. After pollination, the white color of the carpel first turns green. Dissection carpel, exposing the eggs, let's see that the three eggs are colored pink, but one is more colorful than the other two. Only the carpel containing a strongly colored egg develops into fruit. The other two degenerate by a deposit of polyphenols. A histological study has tracked the decline twins carpel and training the embryo sac of the third carpel. These studies show the change in color of the egg from the translucent natural state to a pink coloring corresponds to the increase in the mitotic intensity nucellar cells. The change from pink to white of the fertilized ovum after formed the embryo sac becomes a seed.

**KEYWORDS:** carpel, fertilization, ovule, polyphénols, embryo sac.

**RESUME:** La morphologie florale du palmier dattier a été étudiée afin de compléter les connaissances sur sa structure florale et de retracer l'évolution du seul carpelle en fruit. Ceci se traduit par la transformation morphologique de l'ovaire, constitué par trois carpelles, la mortification du style, ainsi que la dégénérescence des deux carpelles jumeaux. Les changements morpho-histologiques sont suivis avant et après la pollinisation. Les trois carpelles ont des positions très précises par rapport aux pétales. Deux carpelles jumeaux de couleur blanche et de même taille sont portés par un même pétale. Ils sont différents du troisième carpelle porté seul par le troisième pétale. Le développement se poursuit, la taille du troisième carpelle devient plus grande que celle des carpelles jumeaux. Après pollinisation, la couleur des carpelles d'abord blanche vire au vert. la dissection des carpelles, mettant à nu les ovules, permet de voir que les trois ovules se colorent en rose, mais l'un est plus coloré que les deux autres. Seul le carpelle renfermant un ovule fortement coloré se développe en fruit. Les deux autres dégénèrent par un dépôt de polyphénols. Une étude histologique a permis de suivre la régression des carpelles jumeaux et la formation du sac embryonnaire du troisième carpelle. Ces travaux montrent le changement de couleur de l'ovule de l'état

naturel translucide à une coloration rose, correspond à l'augmentation de l'intensité mitotique des cellules du nucelle. Le changement du rose au blanc de l'ovule fécondé qui, après avoir formé le sac embryonnaire, se transforme en graine.

**MOTS-CLEFS:** carpelle, fécondation, ovule, polyphénols, sac embryonnaire.

## 1 INTRODUCTION

Le palmier dattier est une espèce pérenne, monocotylédone de la famille des Arecaceae. Il a été cultivé depuis plusieurs milliers d'années dans le désert du Moyen Orient et de l'Afrique du nord où il constitue l'ossature de l'écosystème oasien. Outre la production des dattes qui composent un aliment énergétique complet très important pour les autochtones, le palmier dattier constitue la structure de base de l'agronomie des oasis en créant un microclimat qui offre les conditions nécessaires pour le bon développement des cultures sous-jacentes (cultures maraîchères, céréales et arbres fruitiers), et ce, en atténuant leur ensoleillement, en maintenant un certain degré d'humidité et en les protégeant du vent.

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une espèce allogame, dont la fécondation des fleurs est assurée par l'homme. Les plantes à fleurs représentent la majorité des espèces des plantes terrestres et leur grande majorité est produite par des fleurs hermaphrodites (10% seulement des espèces végétales présentent l'unisexualité florale) [1], [2]. Quant aux espèces dioïques, dont les individus sont strictement monosexués et portant les fleurs mâles et femelles sur des individus différents, elles représentent 4% des angiospermes [3]. Les *Phoenix* ont évolué à partir de l'hermaphroditisme dioïque [4] permettant ainsi d'éviter l'autofécondation et de promouvoir l'allogamie souvent associée à la pollinisation par le vent [5].

La famille des Arecaceae (Palmaceae) présente un patrimoine génétique important de la classe des monocotylédones. Elle comprend environ 2400 espèces [6], [7] qui sont classées dans 187 genres [8]. Ces espèces présentent des particularités qui les distinguent les unes des autres. Leur identification est basée sur des critères morphologiques de l'appareil végétatif (stipe, feuilles) et sur les caractéristiques de la sexualité, principalement sur le système de reproduction. Le nombre des espèces portant des fleurs unisexuées est plus élevé chez les monoïques que chez les dioïques, suivi par un nombre faible pour les palmiers qui portent des fleurs hermaphrodites [9].

Les espèces des palmiers monoïques se trouvent sous deux états. La plupart des monoïques sont diclines. Elles portent des fleurs unisexuées mâles et femelles se trouvant soit sur des inflorescences séparées comme le palmier à huile ou *Elaeis guineensis*, soit portées sur la même inflorescence telle que *Jubaea chilensis*. D'autres espèces sont monoclines portant des fleurs hermaphrodites (*Brahea dulcis*). Les espèces dioïques sont les individus qui sont strictement unisexués. Leurs fleurs mâles et leurs fleurs femelles se trouvent sur des pieds différents, comme c'est le cas chez les espèces du genre *Phoenix* ou polygames (*Chamaedorea elegans*) [10].

L'acquisition de maturité de floraison des palmiers est de durée très variable selon les espèces. Pour certaines espèces monocarpiques, les inflorescences de taille remarquable situées au-dessus des feuilles n'apparaissent qu'à la fin de leur vie, le changement du méristème apical en méristème d'inflorescence entraîne la mort progressive du palmier comme par exemple chez les *Corypha*, *Tahina* [11], [12], [13], [14].

D'autres espèces pléonanthiques présentent des inflorescences protégées par des spathes qui apparaissent tous les ans [15] et leur position par rapport aux feuilles dépend de l'espèce. On y trouve des inflorescences terminales ou suprafoliales (*Metroxylon salomonense*) qui naissent au-dessus des feuilles et d'autres au-dessous des feuilles infrafoliales axillaires (*Archonotphoenix cunninghamia*), des inflorescences interfoliales axillaires (*Pritchardia pacifica*, *Phoenix dactylifera*) et des inflorescences basales axillaires par transformation du bourgeon axillaire en axe reproducteur (*Chamaedorea radicalis*) [16],[17]. Chez le palmier dattier, [18] a montré que le « bourgeon axillaire indéterminé » est la structure originelle qui évoluera en inflorescence dès que l'individu atteint l'âge reproductif.

On ne peut déterminer l'âge chronologique (âge physique) moyen du palmier dattier, qu'au moment de la première floraison (au cours de laquelle la plante exprime son sexe qui se déclare entre la 5<sup>ème</sup> et la 7<sup>ème</sup> année selon les cultivars. La floraison est induite au moment opportun, avancée ou retardée, lorsque les facteurs environnementaux appropriés, telles que la température, la durée du jour ou la durée d'ensoleillement sont propices et lorsque les facteurs endogènes le permettent assurant ainsi une bonne reproduction.

Chez les palmiers, morphologiquement, le rameau inflorescentiel considéré comme la pousse florifère très productive, va du panicule terminal de grande taille du *Caryota* jusqu'aux épis grêles non ramifiés des palmiers néotiques (*Chamaedorea*) [19].

La voie évolutive a abouti à une série de transformations du nombre d'ordre de ramification du spadice, axe de l'inflorescence. Cette évolution a mené à la réduction de 5 à 6 ordres de branchements repérés chez beaucoup de palmiers [19], jusqu'à des épis simples sans ramification portant des fleurs solitaires. Ceci est observé en particulier chez *Phoenix dactylifera*. Les fleurs des palmiers sont généralement sessiles très souvent petites et rarement colorées [10], sa formule florale est typiquement celle des Monocotylédones de type 3.

En raison de cette grande diversité des espèces de palmiers, de nombreuses études ont été faites sur le développement de la fleur et sa transformation en fruit du point de vue morphologique [20]. Néanmoins, beaucoup d'informations restent encore à fournir, surtout avec la disponibilité de plus en plus d'outils de la biologie moléculaire. Ces outils facilitent l'analyse des structures et des événements associés aux processus du développement floral [21], et offrent les possibilités de mettre en évidence les gènes qui en sont responsables. [22].

[18] a observé que parmi les trois carpelles de la fleur femelle du palmier dattier, un seul se développe en fruit après pollinisation et a ainsi posé le problème de l'involution des deux carpelles de la fleur femelle.

Notre objectif est d'apporter des réponses histo-cytologiques à cette involution des deux autres carpelles. S'agit-il de l'absence de formation d'un sac embryonnaire ? S'agit-il de l'absence de formation de cellule sexuelle dans le sac embryonnaire mature de chaque carpelle ?

## 2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

Compte tenu de la hauteur des palmiers du cultivar 'Takerbucht' et du système de développement monopodial du stipe, se terminant par une couronne massive de palmes épineuses à la base et sachant que sans détruire la plante, il est très difficile d'accéder aux inflorescences, nous avons choisi de travailler sur des individus de taille moyenne en phase de reproduction depuis 3 années successives de la palmeraie de l'INRA ( Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie ) d'Adrar situé dans le Sud-Ouest de l'Algérie (Fig.1).

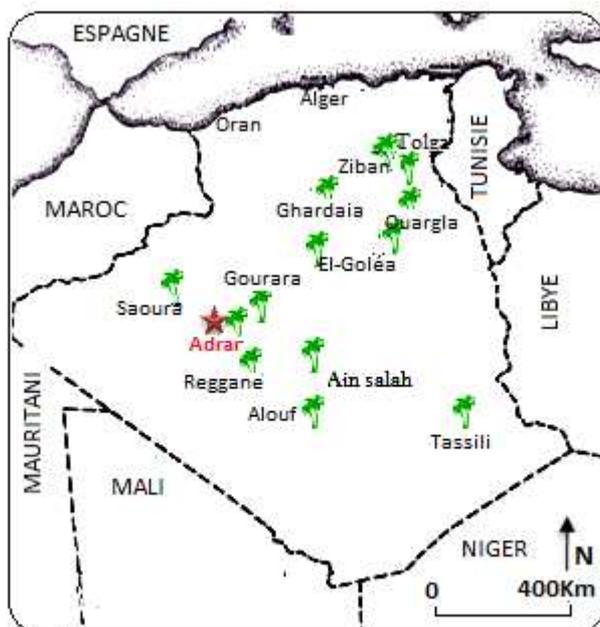


Fig. 1. Carte de l'Algérie, ★ zone de prélèvement des fleurs à partir du cultivar 'Takerbucht'

Les inflorescences utilisées ont été obtenues après l'élimination de plusieurs palmes antérieures et non axillantes d'inflorescences. La pollinisation a été réalisée au mois de février, la température moyenne journalière atteint 20 à 25°C et à la fraîcheur du matin. En introduisant au milieu de la grappe femelle 2 à 4 épillets de fleurs mâles mûres, après éclatement, par une fente médiane, longitudinale dorsale de la spathe (Fig. 2).

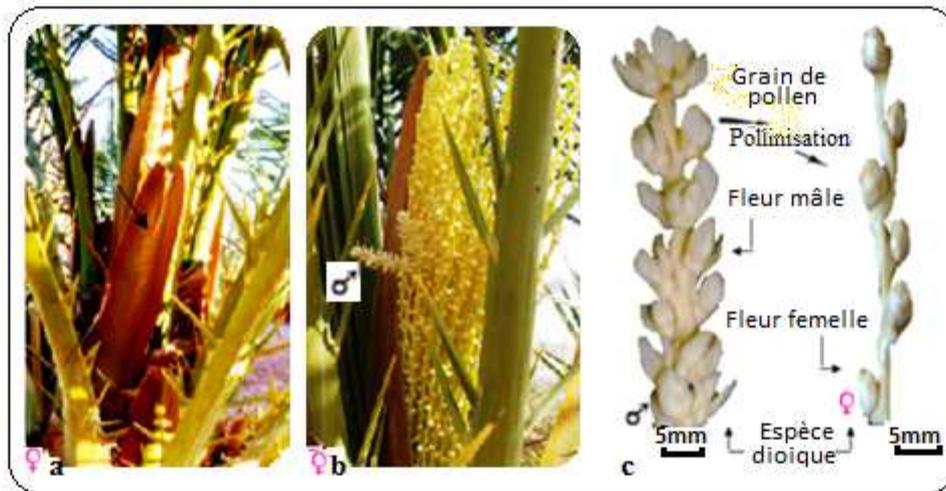


Fig. 2. Eclatement des spathes (a) et pollinisation traditionnelle (b) du cultivar 'Takerbucht'. épillets de fleurs mâle et femelle (c).

L'étude morphologique a été effectuée sur un matériel frais de fleurs femelles par une analyse détaillée, particulièrement sur les carpelles et les ovules à l'œil nu et, si nécessaire, à la loupe binoculaire (Hund metzlar) avant et après leur dissection. Nous avons employé un protocole classique de description morphologique en utilisant la technique de la photographie numérique avec un appareil photo LUMIX. Les recueils de données photographiques se sont par ailleurs révélés très utiles en matière de suivi des transformations de la fleur.

Les fleurs utilisées pour l'étude histologique ont été récoltées quotidiennement pendant neuf jours après pollinisation. Elles ont été immédiatement placées dans un mélange fixateur Formol Alcool Acide acétique (1:8:1). La technique classique d'obtention de coupes histologiques des carpelles inclus dans la paraffine a été utilisée. Une double coloration, Acide Périodique - Schiff (APS) a été employée. Les observations ont été réalisées à l'aide d'un microscope Leica DFC 450 équipé d'une caméra. Les planches photographiques sélectionnées par stade sont représentatives des tissus observés.

### 3 RÉSULTATS

#### 3.1 CARACTÉRISTIQUES DU DÉVELOPPEMENT DES INFLORESCENCES

Espèce pléonanthique, le palmier dattier émet des inflorescences tous les ans, chacune étant imbriquée entre la base de la palme adulte axillante et la gaine de la palme suivante. La couleur de la spathe (bractée) enfermant l'inflorescence varie au cours de son développement. Au début de sa formation elle est de couleur blanche, puis vire au blanc-jaune lorsqu'elle est emprisonnée entre les bases foliaires (Fig. 3a), après émergence complète de la spathe et de sa maturation elle devient verte ; sa surface externe est recouverte de squames poudreuses de couleur brune surtout sur le pourtour du sommet arrondi (Fig. 3b). Elle est de forme allongée aplatie, fusiforme et comprend deux parties: une partie supérieure longue qui correspond au limbe et une partie basale pédonculaire, large et charnue qui la rattache à l'aisselle foliaire (Fig. 3c). Sa surface intérieure est blanche, lisse et humide. Les spathes, bractées ligneuses, durent peu de temps après leurs éclatements ; elles se fanent, se courbent lorsqu'elles sont sèches et doivent être retranchées par ceux qui cultivent soigneusement cette espèce.



Fig. 3. Émergence (a) et développement (b) des inflorescences du cultivar "Takerbucht" ; spathe éclatée (c)

L'observation de la couronne du palmier dattier a permis de constater que le développement des bractées fermées (spathe) suit un gradient d'émergence. Ce gradient est acropète (Fig. 3b), le développement de ces bractées commence de l'intérieur de la couronne au niveau des palmes les plus jeunes et se poursuit vers l'extérieur au voisinage des palmes les plus âgées. À la fin de la phase de croissance des inflorescences, ce gradient devient moins visible mais les inflorescences les plus hautes sont plus vigoureuses que celles du bas formées tardivement.

### 3.2 ORGANISATION MORPHOLOGIQUE DE LA FLEUR FEMELLE DU CULTIVAR 'TAKERBUCHT' : POSITION DES CARPELLES PAR RAPPORT AUX PÉTALES

La fleur femelle du palmier dattier de couleur blanche ivoire, non odorante, de forme globulaire, actinomorphe est de type 3. Cependant, la nature morphologique de la fleur a montré que, sépales et pétales étant différents, l'agencement des pièces florales est spécifique. La planche 1 montre :

Que le calice formé de 3 sépales recouvre les 2/3 de la longueur des pétales (Fig. 4a) qui présentent chacun une arête centrale ou latérale (Fig. 4b) ; la corolle est constituée de trois pétales lisses, ovales et arrondis, plus ou moins ailés (Fig. 4c) ; le pétale ( $p_2$ ), abrite les 2 carpelles  $C_1$  et  $C_2$ , le troisième pétale ( $P_3$ ) recouvre le carpelle  $C_3$  et l'aile de ce pétale recouvre le  $C_1$  ; le pétale  $P_1$  recouvre partiellement les deux pétales précédents (Fig. 4(d, e)). Les trois carpelles libres de l'ovaire supère, recouverts par les pétales, ne laissent apparaître que les stigmates légèrement inclinés vers l'extérieur avec une surface élargie arquée, garnie de papilles visqueuses. Tous les carpelles sont de couleur blanche ivoire mais les différences de taille sont apparentes. On observe deux carpelles jumeaux ( $C_1$ ,  $C_2$ ) possédant presque la même taille, ils sont longs et grêles contrairement au troisième carpelle ( $C_3$ ) qui est plus court et plus large (Fig. 4f). Ce troisième carpelle et son stigmate diffèrent aussi morphologiquement d'une fleur à l'autre (Fig. 4g). Les trois carpelles de la fleur continuent leur croissance différentielle, le troisième carpelle devient relativement plus grand par rapport aux deux carpelles jumeaux (Fig. 4h).

La dissection des carpelles pyriformes montre pour chacun une cavité close abritant un seul ovule d'environ moins de 0.5 mm de long, d'apparence translucide avec une base plate et un sommet ovale présentant deux faces : l'une dorsale plane, qui se trouve du côté ventral du carpelle et l'autre, ventrale bombée, du côté dorsal bombée du carpelle (Fig. 4i)

Six staminodes apparaissent insérés sur les pétales (Fig. 4j) avec en principe trois externes alternipétales et trois internes épipétales mais ils sont en fait répartis de manière à observer trois staminodes en face de  $P_2$ , deux staminodes en face de  $P_3$  et un staminode en face de  $P_1$  (Fig. 4k).

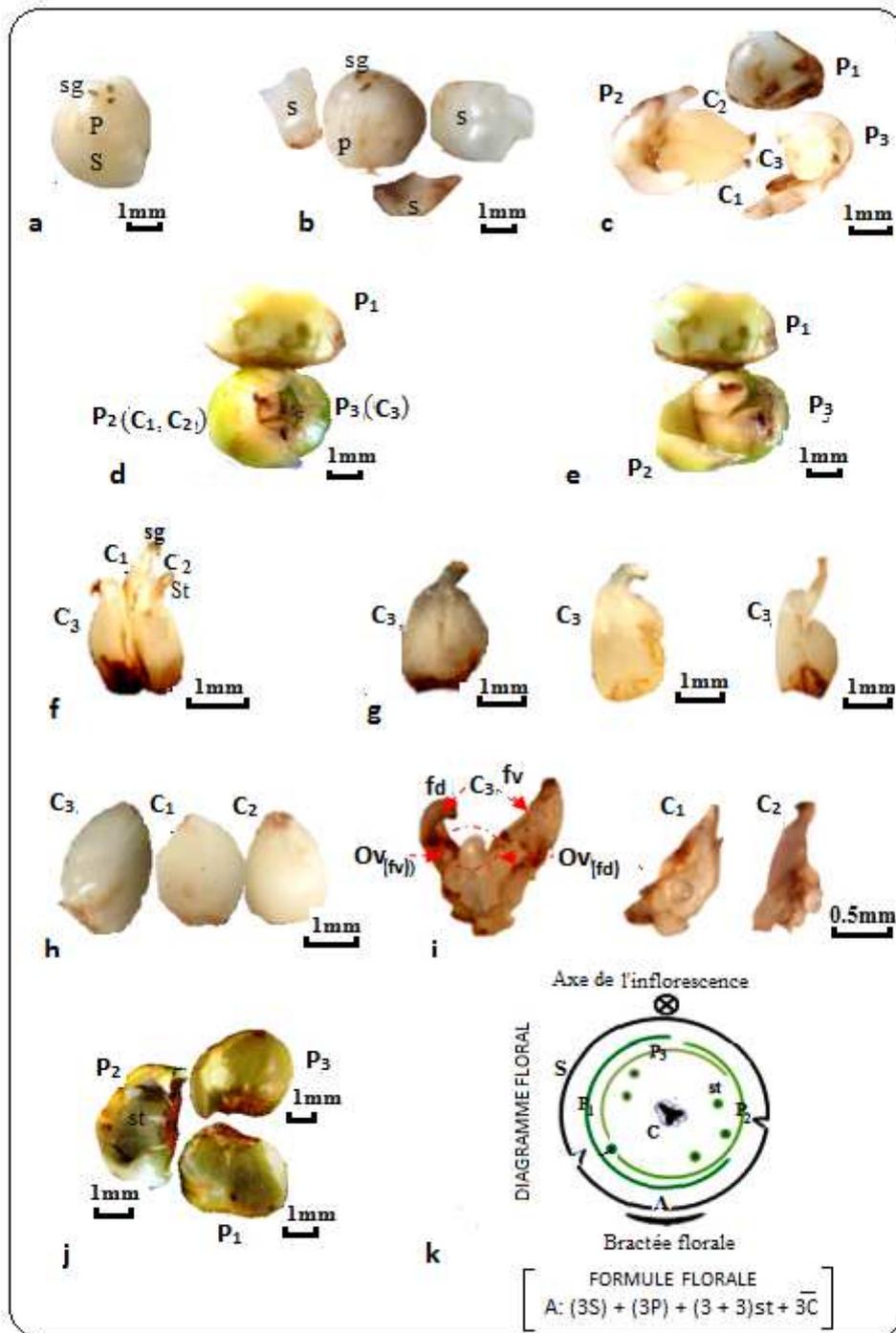


Fig. 4. Dissection et organisation de la fleur femelle de cultivar 'Takerbucht' [calice (a, b); corolle(c, d, e); Carpelles (f, g, h); ovules des trois carpelles (i); staminodes (j)]. [(C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>): carpelles; F<sub>d</sub>: face dorsale; F<sub>v</sub>: face ventrale; Ov: ovule; (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>): pétales, (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>): sépale; sg: stigmate; st: staminode; St: style]

### 3.2.1 MORPHOLOGIE DE LA FLEUR FEMELLE APRES LA POLLINISATION

Les trois carpelles de la fleur femelle du palmier dattier évoluent différemment après pollinisation et fécondation jusqu'à produire un fruit de type baie.

Ainsi, après la pollinisation, la couleur de la fleur vire au jaune, tandis que les sépales recouvrent seulement de moitié les pétales (Fig. 5a). La fleur continue sa croissance, sa longueur moyenne est de 3 à 4 mm, sa couleur vire au jaune vert et les

pétales sont écartés et se recouvrent partiellement sous la poussée des carpelles qui grossissent. Les sépales qui ont arrêté leur croissance couvrent 1/3 des pétales de la fleur (Fig. 5b).

### 3.2.2 ÉTUDE DU DEVELOPPEMENT DES CARPELLES ET DES OVULES AU COURS DE LA POLLINISATION, DE LA FECONDATION ET DE LA NOUAISON

Une série d'observations morphologique et histologique des carpelles de la fleur de 'Takerbucht' ont montré que le sort des ovules des deux carpelles jumeaux est fortement modifié. Très précocement après leurs pollinisations, au cours de leur développement ces deux ovules changent de couleur et virent vers le marron (présence en excès de polyphénols) et finissent par dégénérer et le troisième carpelle se développe en fruit.

Ainsi, les épillets mâles, introduits au milieu de l'inflorescence femelle mature, libèrent une poussière de grains de pollen sous l'effet des vibrations engendrées par le vent. Les grains de pollen déshydratés sont transportés sur les stigmates des fleurs femelles et vont germer et féconder la fleur femelle. La couleur des parties des carpelles qui sont exposé à la lumière (photons), vire alors au jaune vert. Le carpelle C<sub>3</sub> devient plus volumineux ; sa base renflée présente deux faces et sa partie supérieure est plus étroite se terminant par un style très court. La face dorsale est bombée tandis que la face ventrale est matérialisée par deux surfaces planes, séparées par un sillon longitudinal correspondant à la ligne de suture (indice morphologique), et grâce à cet indice on peut délimiter ultérieurement la face ventrale de la face dorsale du carpelle au cours de son développement en fruit (Fig. 5(c, d)). En même temps, un brunissement commence avec la perte de la chlorophylle du C<sub>2</sub> d'abord puis du C<sub>1</sub> est observé, suivi par leur dégénérescence complète (Fig. 5e). Seuls leurs stigmates lignifiés persistent un moment (Fig. 5f).

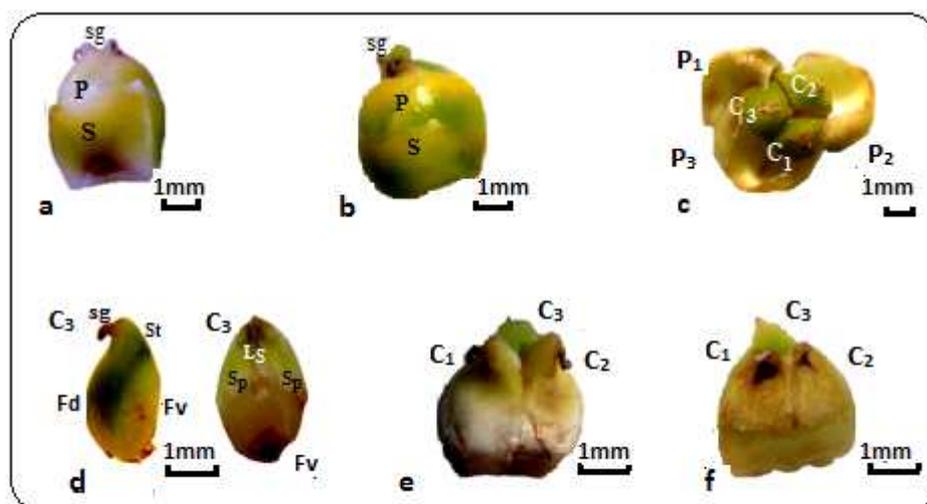


Fig. 5. Morphologie de la fleur (a, b), des carpelles (c, d) et dégénérescence des carpelles (e, f) après pollinisation du cultivar 'Takerbucht' [Ls : ligne de suture ; Sp : surface plane]

### 3.2.3 OVULES APRES POLLINISATION DES TROIS CARPELLES

La série de photos (Fig. 6) relatives aux trois carpelles pollinisés montre que les trois ovules des trois carpelles d'une même fleur sont de couleur rose. Ceux appartenant aux carpelles jumeaux C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> apparaissent ridés alors que celui du C<sub>3</sub> reste lisse. Cette couleur rose est très foncée au niveau de l'ovule lisse du carpelle (C<sub>3</sub>). Elle est claire au niveau du C<sub>2</sub>, et elle est d'un ton intermédiaire au niveau du carpelle (C<sub>1</sub>) (Fig. 6a).

Sur le plan de la taille, nous constatons la formation de deux types de croissance : les trois ovules sont à peu près de même taille c'est le cas le plus courant ; l'ovule du C<sub>2</sub> reste petit par rapport aux deux autres ovules des carpelles C<sub>1</sub> et C<sub>3</sub> (Fig. 6b). Plus tard l'ovule de C<sub>2</sub> dégénère totalement alors que les ovules C<sub>1</sub> et C<sub>3</sub> restent équivalents de taille mais la couleur de l'ovule C<sub>1</sub> prend une couleur brune, ne croit plus et finit par disparaître. L'ovule C<sub>3</sub> ne dépassant pas le 1 mm à ce stade présente alors une couleur rose plus intense (Fig. 6c). Au stade de fruit noué (Fig. 6d), l'ovule fécondé évolue en stade très jeune de graine de couleur blanche (Fig. 6e).

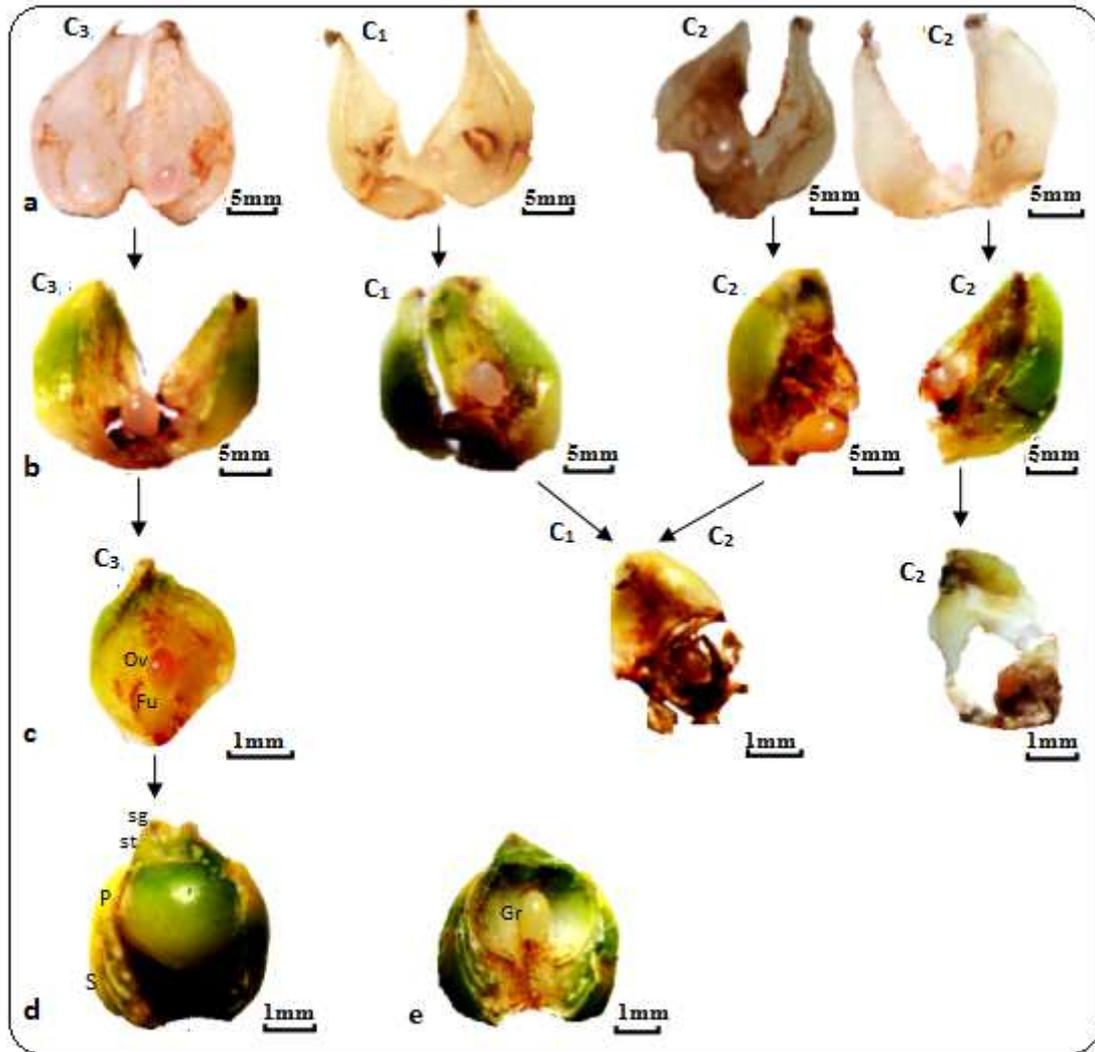


Fig. 6. Ovules après pollinisation des trois carpelles (a, b, c) et après fécondation de l'ovule du C<sub>3</sub> (fruit noué) (d, e) (Fu: funicule ; Gr: graine)

### 3.3 ÉTUDE HISTOCYTOLOGIQUE DES CARPELLES POLLINISÉS ET ÉVOLUTION HISTOCYTOLOGIQUE DES TROIS OVULES

#### 3.3.1 HISTOLOGIE DES CARPELLES

La coupe longitudinale montre que le carpelle pollinisé présente une symétrie bilatérale (Fig. 7a). Il est formé de l'épiderme externe, constitué d'une assise de petites cellules cutinisées imperméables, renfermant un noyau volumineux central et un cytoplasme dense. Il recouvre un parenchyme à méat non homogène. En effet, des particularités cellulaires sont observées selon le plan apico-basal.

Dans la partie sommitale, les cellules riches en raphides d'oxalate de calcium sont situées surtout de part et d'autre du canal styloïde qui met en relation la loge ovulaire et le stigmate bordé de cellules papilleuses. Le canal styloïde est plus ouvert dans C<sub>2</sub> par rapport à ceux des autres carpelles C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub>. Le canal est tapissé par une assise de cellules sécrétrices (colorée en rouge par le réactif de Schiff).

A la base du carpelle, la présence des polyphénols (tanins) sous forme de petits granules dispersés peuvent être réunis en masse compacte. Ils sont piégés dans les vacuoles de certaines cellules disposées en un cercle, séparant ainsi le tissu de parenchyme en deux zones : zone externe constituée de quelques assises de petites cellules et une zone interne plus importante, constituée de grandes cellules vacuolisées. Et un épiderme interne à cellules allongées, limitant la loge ovulaire. La teneur en polyphénols des carpelles jumeaux est plus élevée par rapport au troisième carpelle C<sub>3</sub> (Fig. 7a).

Concernant les ovules (Fig. 7b), il existe une différence initiale dans la répartition des tannins vacuolaires dans les cellules du nucelle appartenant à chacun des ovules d'une fleur; ce qui va jouer postérieurement un rôle important dans le développement ou la dégénérescence de l'ovule. Les ovules des C<sub>3</sub> accumulent des tannins vacuolaires à la périphérie abaxiale du nucelle. Par contre Les ovules du C<sub>1</sub> accumulent peu de tanins dans différentes parties de l'ovule. La plupart des ovules appartenant au C<sub>2</sub> possèdent des tanins en petite quantité et demeurent plus grands que les quelques ovules des C<sub>2</sub> qui n'accumulent pas de tanins (1/5<sup>ème</sup>).

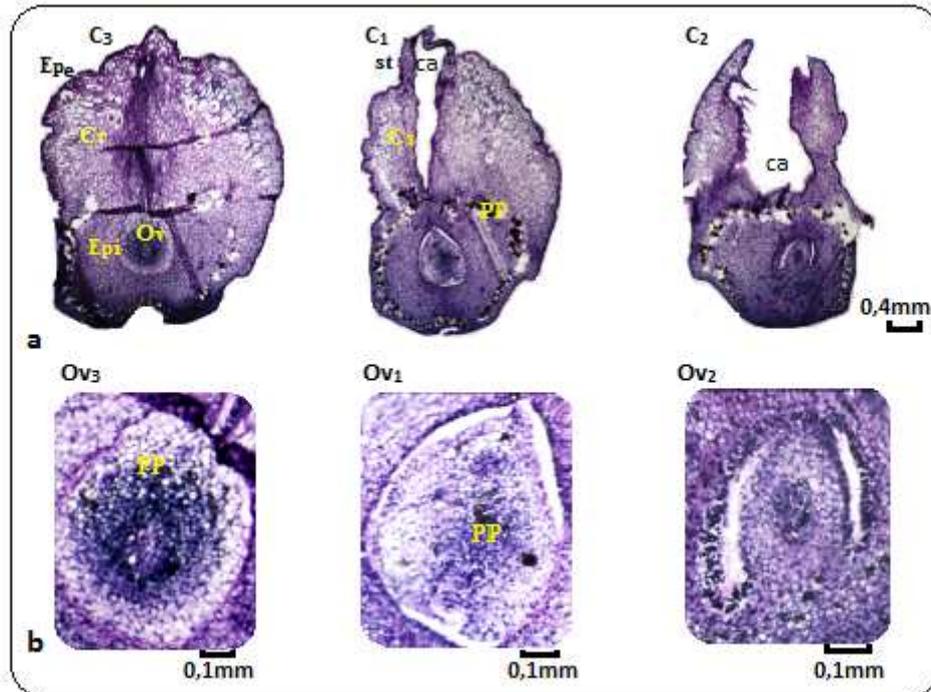


Fig. 7. Coupe longitudinale des carpelles (a) et des trois ovule (b) 3heures après pollinisation [Epe : épiderme externe ; Epi : épiderme interne ; ca : canal styloïde ; Cs : cellules sécrétrices ; Cr : cellules à raphides ; PP : polyphénols ; St : style]

### 3.3.2 ÉVOLUTION HISTOCYTOLOGIQUE DES TROIS OVULES APRES POLLINISATION

L'évolution des ovules des trois carpelles présentent des différences selon qu'ils appartiennent au C<sub>1</sub>, au C<sub>2</sub> ou au C<sub>3</sub>. Ainsi, l'étude histocytologique des différents stades d'évolution des carpelles et de leurs ovules a montré la formation initiale d'un sac embryonnaire uniquement chez les ovules des C<sub>1</sub> et C<sub>3</sub> ; mais le sac embryonnaire n'est pas structuré dans l'ovule du C<sub>1</sub> et l'accumulation progressive des tanins provoque sa dégénérescence. Seul le sac embryonnaire de l'ovule du C<sub>3</sub> poursuit sa formation.

Dès la pollinisation, l'ovule s'agrandit grâce à une succession de divisions cellulaires au centre. Les noyaux et les nucléoles sont colorés en vert bleu, puis fortement colorés en bleu noir par Naphtol Blue Black, couleur spécifique des protéines, ce qui explique l'accumulation en réserves protéiques au niveau cytoplasmique sous forme de précipités.

Du côté du micropyle à la face adaxiale du carpelle (ovule anatrophe), une des cellules internes s'individualise après le 2<sup>ème</sup> jour de pollinisation en macrospore avec un noyau volumineux (Fig. 8a). Cette cellule s'agrandit au fur et à mesure en subissant des mitoses. On aperçoit la formation de deux noyaux dès le 3<sup>ème</sup> jour dans les deux ovules du C<sub>1</sub> et du C<sub>3</sub> (Fig. 8b). La présence et l'augmentation de sécrétion de polyphénols dans les cellules du nucelle provoque le ralentissement et l'arrêt de développement du sac embryonnaire de l'ovule du carpelle C<sub>1</sub> qui finit par avorter spontanément le 6<sup>ème</sup> jour (Fig. c). Par contre les deux noyaux de l'ovule du carpelle C<sub>3</sub> ont subi deux mitoses successives conduisant au 9<sup>ème</sup> jour à la formation de huit noyaux haploïdes à l'intérieur du sac embryonnaire élargi (Fig. 8d).

Concernant l'ovule du C<sub>2</sub>, l'accumulation précoce et plus importante des polyphénols dans les cellules du nucelle induit la destruction des vacuoles libérant leur contenu dans toute la cellule. Les cellules sont lysées et ces ovules dégèrent.

L'ovule mature du C<sub>3</sub> est alors relié au placenta de l'ovaire par un fin cordon, le funicule. Il comporte deux téguments concentriques externe et interne. Ils ne sont pas soudés au sommet, laissant ainsi une petite ouverture nommée micropyle qui se trouve à proximité du funicule du fait de la position anatrophe de l'ovule et par laquelle pénétrera le tube pollinique

pour avoir accès au sac embryonnaire (Fig. 8e). Ce dernier est constitué de huit cellules haploïdes : deux synergides et l'oosphère, près du micropyle, trois antipodes situées à l'opposé et enfin deux noyaux polaires au sein d'un même cytoplasme au centre du sac qui sera à l'origine de l'albumen (Fig. 8e).

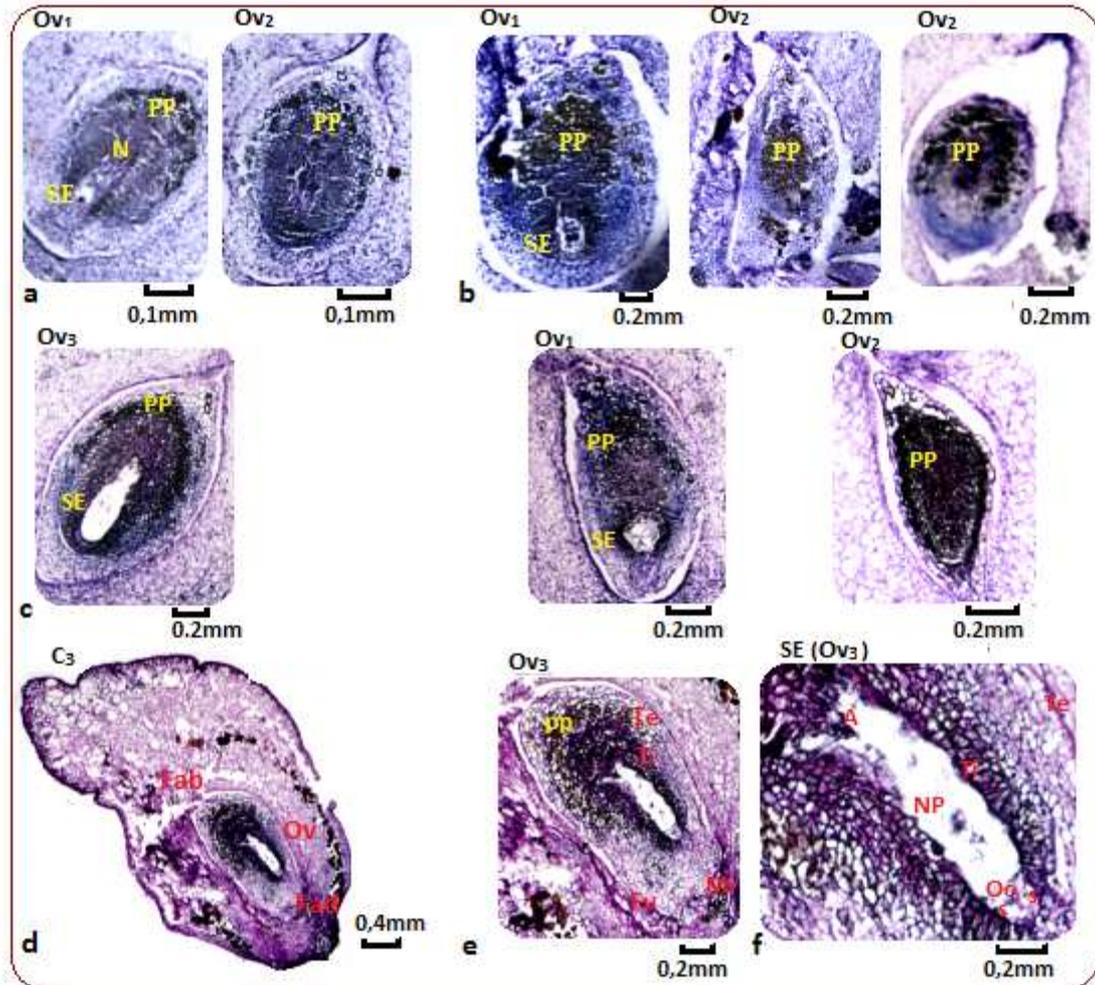


Fig.4. Étapes du développement des ovules appartenant aux carpelles (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>) après [2<sup>ème</sup> (a), 3<sup>ème</sup> (b), 6<sup>ème</sup> (c), 9<sup>ème</sup> (d)] jour de pollinisation ; ovule du C<sub>3</sub> (e) ; sac embryonnaire (f). [A : antipode ; Fu : funicule, Fab : face abaxiale ; Fad : face adaxiale ; Mi : micropyle ; N : nucelle ; NP : noyaux polaires ; Oo : oosphère ; PP : polyphénols ; SE : sac embryonnaire ; S : synergide ; Te : tégument externe ; Ti : tégument interne]

#### 4 DISCUSSION

Le bourgeon apical unique du palmier dattier joue un rôle important dans le développement et de la survie de la plante. Il édifie des bourgeons axillaires qui, ultérieurement, participeront à la propagation de l'espèce en produisant en particulier les organes reproducteurs et le programme de développement floral aboutit à la formation des fruits pour lesquels le palmier dattier est cultivé.

Les travaux de [23], [18] ont montré que les inflorescences naissent du développement des bourgeons axillaires indéterminés situés à l'aisselle des ébauches foliaires, au cours de la vie de la plante qui poursuit sa croissance monopodiale grâce à son seul bourgeon végétatif apical. La floraison du palmier dattier est saisonnière comparativement à celle d'autres palmiers, comme *Elaeis guineensis* ou *Geonoma epitiolata*, qui peut s'étaler sur toute l'année [14].

Les fleurs femelles unisexuées dérivent de fleurs bisexuées et montrent un avortement de l'androcée immature. La première description du développement floral du palmier dattier a été rapportée par [24]. Ils ont pu identifier l'existence d'un stade bisexuel précoce du bourgeon floral et ont montré que l'androcée correspondait à deux verticilles de trois staminodes. [25] ont suivi l'ontogénie de la fleur par une étude histologique et ont montré que l'initiation des ébauches se

réalisait dans l'ordre calice – corolle – staminode (étamine stérile) – gynécée mais n'ont pas précisé l'agencement des pièces florales entre elles et d'un verticille à un autre. Nos travaux ont précisé cet agencement qui est conforme à l'organisation trimérique des Monocotylédones mais la position des organes sexuels est particulière : le pétale ( $p_2$ ), où sont insérés au centre de sa base trois staminodes, abrite deux carpelles  $C_1$  et  $C_2$ , le pétale ( $p_3$ ), où est inséré deux staminodes loge le carpelle  $C_3$  et enfin le pétale ( $p_1$ ) où est inséré un staminode recouvre partiellement les deux pétales ( $p_2$ ) ( $p_3$ ). Cet agencement permet de savoir précocement quel sera le carpelle qui deviendra un fruit. Le diagramme floral a donc été précisé par rapport à ce qui a été donné dans les travaux antérieurs [26], [18].

[18], ayant suivi l'ontogenèse des fleurs en microscopie photonique, électronique et en balayage a confirmé la bisexualité au stade précoce des fleurs et la régression ou l'involution des deux carpelles jumeaux après pollinisation laissant la place au 3<sup>ème</sup> carpelle qui évoluera en fruit. Mais cette régression ou involution n'a pu être expliquée, ce qui a justifié nos travaux qui ont permis de suivre le développement des 3 carpelles et ovules d'une même fleur en même temps. En effet, chez le palmier dattier, la datte provient du développement d'un des trois carpelles. Nos résultats concordent avec les résultats de [27], [28]. De plus, nos observations ont permis de constater que les carpelles jumeaux, protégés par le même pétale, portent des ovules rugueux de couleur rose clair qui s'atrophient et disparaissent quelques jours après leur pollinisation. Par contre, le 3<sup>ème</sup> carpelle qui est protégé par un autre pétale et qui loge un ovule de couleur rose foncé lisse se développe en fruit. La dégénérescence des deux carpelles dit « jumeaux »  $C_1$  et  $C_2$  semble liée à la présence ou l'absence initiale de tanins dans les ovules. En effet, l'étude faite par [29] sur l'importance des tanins vacuolaires dans le développement des ovaires et des ovules de la vigne a révélé que la présence des tanins en des sites bien définis de l'ovule est un signe de développement normal, tandis que leur absence ou leur rareté annonce inéluctablement leur involution. En outre, les cellules du nucelle et celles du gamétophyte des ovules sains ne renferment jamais de vacuoles tanniques.

Les coupes réalisées sur les carpelles du palmier dattier variété 'Takerbucht' montrent qu'il ya une différence dans la répartition des tanins vacuolaires dans les trois ovules et que les petits ovules des quelques carpelles  $C_2$  sont privés de tanins.

Les coupes histologiques des trois carpelles ont montré la localisation des polyphénols aux endroits bien précis. Plusieurs auteurs [30], [31], [32] ont signalé que les tanins sont des polyphénols naturellement produits par les plantes. Ils sont solubles dans l'eau, se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables. [33] ont confirmé que la distribution des composés phénoliques dans le tissulaire n'est pas uniforme. Ils sont présents sous deux formes dans la cellule : insolubles dans la paroi, et solubles dans les vacuoles. Ces composés phénoliques sont essentiels à la physiologie de la plante, étant ils sont impliqués dans diverses fonctions tels que la structure, la pigmentation, la pollinisation, ainsi que la croissance et le développement.

Au cours du développement des carpelles pollinisés, les carpelles jumeaux commencent à perdre leur chlorophylle puis brunissent avant leur dégénérescence complète et leurs stigmates deviennent lignifiés. Différentes interprétations ont été mentionnées pour expliquer ce phénomène ; [34] ont signalé que les enzymes d'oxydation (polyphénol oxydase PPO et peroxydase POD) sont situées dans les organites cellulaires : mitochondries, chloroplastes et cytoplasme. La membrane qui sépare la vacuole du cytoplasme empêche tout contact entre les enzymes d'oxydation et les polyphénols. Cependant, l'accumulation des tanins, connus pour être des dénaturants de protéines, constitue un danger permanent pour l'intégrité membranaire [29]. Dans le cytoplasme, les tanins modifient la perméabilité des membranes (rupture du tonoplaste), ce qui pourrait réduire l'intégrité de l'ADN et de l'ARN [35], [33], et ils accélèrent la dégradation de la chlorophylle [36].

Les composés phénoliques, par leur structure, sont des composés facilement oxydables par les enzymes [37]. Avec la présence de l'oxygène, cette oxydation se produit. Des brunissements apparaissent après la désorganisation cellulaire. Cette désorganisation des composants cellulaires est souvent le résultat de la dégradation des membranes par les formes toxiques de l'oxygène [38]. L'accumulation des tanins dans le cytoplasme conduit à la mort cellulaire [39], [40], [41].

Pour une bonne production dattière et du fait que la pollinisation traditionnelle se fait par l'homme, il est très important de situer la période de réceptivité des fleurs femelles durant laquelle la fleur est apte à être fécondée. L'étude histologique du développement des ovules de cultivar 'Takerbucht' a montré que le sac embryonnaire se forme après la pollinisation et seulement au neuvième jour ce qui est contraire aux résultats de [18] obtenus sur le cultivar 'deglet Nour'. Cette observation, si elle est confirmée par d'autres travaux, permettra aux pollinisateurs de disposer d'un temps suffisant après l'ouverture de la spathe pour polliniser. [42] a rapporté les périodes de réceptivité de quelques cultivars algériens: Deglet Nour (12jours) ; Mech Degla (9jours) ; Degla Beida (8jours) ; Ghars (6 à 8 jours). En cas de dépassement de ces délais, un nombre élevé de fruits parthénocarpiques (fruits non fécondés) seront obtenus, ce nombre peut excéder 50% du total des fruits.

## 5 CONCLUSION

Les différentes nuances de la couleur rose que prennent les différents types d'ovules dans la fleur immédiatement après la pollinisation est un indice de vitalité des ovules et de pollinisation de ces trois carpelles.

Le changement de la couleur de l'ovule du C<sub>3</sub> en rose foncé est un important signe de l'intensité mitotique des cellules de nucelle. Il constitue un marqueur pour la formation du sac embryonnaire qui dure 9 jours chez 'Takerbucht' et donc du carpelle qui va devenir le fruit. Par contre le changement de la couleur de l'ovule du C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> en rouge brun est un signe de leur dégénérescence.

Il existe une corrélation entre le développement entre les carpelles et celui de leurs ovules : le carpelle C<sub>2</sub> (ovule) dégénère le premier suivi par le carpelle C<sub>1</sub> (ovule), alors que le carpelle C<sub>3</sub> et son ovule continuent leur développement

Les trois ovules n'ont pas les mêmes capacités d'évolution. L'involution des deux ovules colorés en rouge-brun puis leur dégénérescence peuvent être interprétée par la présence de dépôts importants de substances polyphénoliques. De ce fait les tanins paraissent être un marqueur de la vitalité des ovules.

La régression des ovules jumeaux est donc structurelle et physiologique du fait de l'absence de formation de sac embryonnaire mature et donc pas de formation de cellule sexuelle. La pollinisation a provoqué un début de formation de sac embryonnaire dans un des 2 carpelles jumeaux mais elle est suivie d'un envahissement cellulaire par les tanins. Il reste à savoir pourquoi ce sont les carpelles situés en face du pétale P<sub>2</sub> qui sont soumis à cette régression. Seules des études moléculaires et génétiques pourront probablement répondre à cette question.

## REFERENCES

- [1] C. Yampolsky and H. Yampolsky, *Distribution of the sex forms in the phanerogamic flora*, Collection Bibliotheca genetica, 1922.
- [2] C. Ainsworth, "Boys and girls come out to play: The molecular biology of dioecious plants," *Annals of Botany*, vol. 86, no. 2, pp. 211–221, 2000.
- [3] R. Ming, Q. Yu, and P.H. Moore, "Sex determination in papaya," *Seminars in Cell and Developmental Biology*, vol. 18, no. 3, pp. 401–408, 2007.
- [4] G. D. Weiblen, R. K. Oyama and M. J. Donoghue, "Phylogenetic analysis of dioecy in Monocotyledons," *The American Naturalist*, vol. 155, no. 1, pp. 46–58, 2000.
- [5] W.G. Wilson and L.D. Harder, "Reproductive uncertainty and the relative competitiveness of simultaneous hermaphroditism versus dioecy," *The American Naturalist*, vol. 162, no. 2, pp. 220–241, 2003.
- [6] C. Morici, *Palmeras e islas: lainsularidad en una de las familias mas diversadelreino vegetal*, In: Fernández-Palacios, J.M. y Morici, C. (eds). *Ecologia insular/Island ecology*. Asociacion espanola de ecologiaterrestre (AEET) - Cabildo Insular de la Palma, pp. 81–122, 2004.
- [7] M.M. Thomas, N.C. Garwood, W.J. Baker, S.A. Henderson, S.J. Russell, D.R. Hodel and R.M. Bateman, "Molecular phylogeny of the palm genus Chamaedoreae, based on the low – copy nuclear genes PRK and RPB2," *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 38, no. 2, pp. 398–415, 2006.
- [8] J. Dransfield, N.W. UHL, C.B. Asmussen, W. Baker, M. Harley and C.E. Lewis, "A new phylogenetic classification of the palm family, Arecaceae," *Kew Bulletin*, no.60, pp. 559–569, 2005.
- [9] N.W. Uhl, "Anatomy and ontogeny of the cincinni and flowers in *Nannorrhops ritchiana* (Palmae)," *Journal of the Arnold Arboretum*, no. 50, pp. 411–431, 1969.
- [10] J. Sannier, S. Nadot, A. Forchioni, M. Harley fls and B. Albert, "Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen," *Botanical Journal of the Linnean Society*, Vol. 151, no. 1, pp 93–102, 2006.
- [11] P. B. Tomlinson, *The structural biology of palms*, Clarendon Press, Oxford, 1990.
- [12] R. Dubois, N. Charrie and J.B. Beaufils, "Les palmiers : dinosaures du règne végétal, aujourd'hui seigneurs menacés," *Hommes et Plantes*, no.29, pp. 33–39, 1999.
- [13] P.O.Albano, *La connaissance des Palmiers: culture et utilisation*, Aix-en-Provence: Edisud, 2002.
- [14] J. Dransfield, N.W. Uhl, C.B. Amussen, W.J. Baker, M. Harley and C.E. Lewis, *Genera Palmarum. The evolution and classification of palms*, Royal Botanic Gardens Kew, Kew UK, 2008.
- [15] R.M.T. Dahlgren, H. T. Clifford and P.F. Yeo, *The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy*. Springer -Verlag. Berlin, 1985.
- [16] N.W. Uhl and J. Dransfield, *Genera Palmarum, A classification of palms based on the work of Harold E. Moore Jr.* Liberty Hyde Bailey Hortorium and the International Palm Society, Lawrence, Kansas, 1987.

- [17] D. Jones, *Palms throughout the World*, Ed. Reed Books in Australia, 1994.
- [18] N. Bouguedoura, *Le palmier dattier : développement morphogénétique des appareils végétatifs et reproducteurs*, Editions Universitaires Européennes, 2012.
- [19] N.W. Uhl, "Inflorescence and flower structure in *Nypa fruticans* (Palmae)," *American Journal of Botany*, vol. 59, no. 7, pp. 729-743, 1972.
- [20] V. A. Funk, A. Suzanna, T. F. Stuessy and H. Robinson, *Classification of Compositae*, In: Funk. VA., Suzanna. A., Stuessy TF., Bayer RJ (eds) *Systematic, Evolution and Biogeography of Compositae*, International Association for Plant Taxonomy, pp. 171- 189, 2009.
- [21] B. A. Krizek and J. C. Fletcher, "Molecular mechanisms of flower development: an armchair guide," *Nature Review Genetics*, vol. 6, pp. 688-698, 2005.
- [22] E. S. Coen and E. M. Meyerowitz, "The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development," *Nature*, no. 353, pp. 31-37, 1991.
- [23] N. Bouguedoura, "Development and distribution of axillary buds in (*Phoenix dactylifera* L.)," *The first symposium on the date palm, King Faisal. Univ. Al Hassa. Saudi Arabia. 23-25 Mars 1982*, pp. 40-45, 1982.
- [24] D. A. De Mason, K. W. Stolte and B. Tisserat, "Floral development in *Phoenix dactylifera*," *Canadian Journal of Botany*, vol. 60, no. 8, pp. 1437-1446, 1982.
- [25] A. Daher, H. Adam, N. Chabrilange, M. Collin, N. Mohamed, J. W. Tregear and F. Aberlenc-Bertossi, "Cell cycle arrest characterizes the transition from a bisexual floral bud to a unisexual flower in *Phoenix dactylifera*," *Annals of botany*, vol. 106, no. 2, pp. 255-266, 2010.
- [26] P. Munier, *Le palmier dattier*, Ed : G. P. Maisonneuve et Larousse, coll. Techniques agricoles et productions tropicales, Paris, 1973.
- [27] A. Ben Abdallah, La phœniciculture. In: Dollé V. (ed.), Toutain G. (ed.) *Les systèmes agricoles oasiens*, Montpellier: CIHEAM. Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; no. 11, 1990.
- [28] N. Bouguedoura and S. Moussouni, "Histological and biochemical studies of zygotic embryogenesis towards improvement of somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.)," *Acta Hort. (ISHS)*, no. 882, pp. 199-209, 2010.
- [29] M. Fougère-Rifot and J. Bouard, "Evolution de l'ovaire en rapport avec la coulure chez deux variétés de *Vitis vinifera* L., le Merlot et le Chardonnay," *INRA-VITI 92, De la Vigne au Vin : les Actualités de la Recherche*, pp. 22-26, 1992.
- [30] M. Zhu, J. D. Phillipson, P. M. Greengrass, N. E. Bowery and Y. Cai, "Plant polyphenols: biologically active compounds or non-selective binders to protein," *Phytochemistry*, vol. 44, no. 33, pp. 441 – 447, 1997.
- [31] K. Khanbabaee and T. Van Ree, "Tannins: Classification and definition," *Natural Product Reports*, vol. 18, pp. 641 – 649, 2001.
- [32] S. Sweeney, B. Palmer, D. Neill and D. Krause, "Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 91, no. 1-2, pp. 83-93, 2001.
- [33] Z. H. Li, Q. Wang, X. Ruan, C. D. Pan and D. A. Jiang, "Phenolics and plant allelopathy," *Molecules*, vol. 15, no. 12, pp. 8933 – 8952, 2010.
- [34] P. M. A. Toivonen and D. A. Brummell, "Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 48, no. 1, pp. 1-14, 2008.
- [35] R. S. Zeng, S. M. Luo and Y. H. Shi, M.B. Shi and C.Y. Tu, "Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid from higher plants," *Agronomy journal*, vol.93, pp. 72-79, 2001.
- [36] M. Kato and S. Shimizu, "Chlorophyll metabolism in higher plants VI. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation," *Plant and Cell Physiology*, vol. 26, no. 7, pp. 1291-1301, 1985.
- [37] E. Degl'Innocenti, L. Guidi, A. Pardossi and F. Tognoni, "Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*)," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 26, pp. 9980-9984, 2005.
- [38] J. Whitaker and C. Y. Lee, *Recent advances in chemistry of enzymatic browning*. In: Lee C.Y., Whitaker J.R (Eds.), *Enzymatic browning and its prevention*, Washington, American Chemical Society, pp. 2-7, 1995.
- [39] R. H. Hall, P. S. Baur and C. H. Walkinshaw, "Variability in oxygen consumption and cell morphology in slash pine tissue cultures," *Forest Science*, vol. 18, no. 4, pp. 298-307, 1972.
- [40] P. S. Baur and C.H. Walkinshaw, "Fine structure of tannin accumulations in callus cultures of *Pinus elliotii* (slash pine)," *Revue Canadienne de Botanique*, vol. 52, no. 3, pp. 615-619, 1974.
- [41] J. R. Barnett, "Fine structure of parenchymatous and differentiated *Pinus radiata* callus," *Annals of Botany*, vol. 42, no. 2, pp. 367-373, 1978.
- [42] G. Toutain, *Eléments d'agronomie saharienne : de la recherche au développement*. Paris INRA-Gret, 1979.