

Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie Filière : Sciences biologiques Spécialité : Biochimie appliquée

Ráf	
IVCI.	

Présenté et soutenu par :

*Imene MAKOUF *Abdelhakim GOUTTAYA

Le: Mercredi 30 Septembre 2020

Thème

Etude palynologique des pollens de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) dans la région d'El-Meghaier.

Jury:

Mme. Khadidja BOUKHAROUBA Pr Université de Biskra Président
 M. Bilal BENAMOR MCB Université de Biskra Rapporteur
 Mme. Leila BELLEBCIR MAA Université de Biskra Examinateur

Année universitaire : 2019 - 2020



Remerciements

A l'issu de ce modeste travail, nous tenons à remercier **ALLAH** le tout **Puissant**, le tout **Miséricordieux**, de nous avoir permis d'atteindre ce niveau d'étude et pour nous avoir donné la santé, la force, le courage et la volonté d'achever notre humble recherche.

Nous remercions et exprimons notre reconnaissance au **Docteur BENAMOR Bilal**, Maître conférence au département de Biologie, Université Mohamed Khider - Biskra, pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses précieux conseils, ses observations et sa disponibilité qui nous ont été d'une grande utilité tout au long de ce travail.

Des remerciements également aux **Membres du Jury**, président et examinateur, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre modique étude et pour avoir accepté d'examiner, d'évaluer et d'enrichir par leurs propositions, cette recherche.

Nous remercions **El-Hadj DJERIBIAI Abdel-Djabbar** et **ses Fils** pour nous avoir permis d'utiliser le pollen de leurs « Dokkars », comme éléments essentiels de notre étude ainsi que pour les précieuses informations qu'ils nous ont fournis concernant leur palmeraie particulièrement et la phoeniciculture en général.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de la présente étude.

Dédicace

C'est, ici, l'occasion pour dédier ce travail aux

Sources de mes joies, secret de ma force, Le support de ma vie, *Les plus chères*personnes dans le monde, *mes parents*; qui ont toujours fait leur maximum, en sacrifiant leur temps, Qui n'ont jamais cessé de m'encourager, de m'épauler et m'ont soutenu moralement par leur présence. C'est grâce à vous et pour vous que j'ai fait ce mémoire.

Aucun mot sur cette page, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et le remerciement d'être mes parents.

** Qu'Allah vous accorde longue vie dans la santé et le bonheur **

À mes adorables soeurs : Wafa, Toma.

À mes chers frères: Adel, Mohamed, Karim, Chaker.

Pour leurs soutiens et encouragements permanents tout au long de mon parcours

À ma grand-mère paternelle

Qui est toujours dans mon esprit, en présent tu n'es plus là ... Tu nous as quittés si vite!, Aujourd'hui je vous dédie mon réussite qui est l'expression des vœux que vous n'avez jamais cessé d'exprimer dans vos prières, j'aurais tant aimé de vous soyez près de nous en ce moment, je prie **Dieu** tout-puissant de vous accueillir dans son paradis éternel.

\grave{A} toutes les personnes de ma grande famille maternelle \grave{A} mes chères et proches amies

Hana; Khanssa; Abir; Khalida; Souzi; Besma; Chaima;

Manel; Samia; Aya; Sonia; Asmahan; Moundher; Idriss,

En souvenirs de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble, j'espère de tout coeur que notre amitié durera éternellement

** Merci d'être dans ma vie **

Imene

Dédicace

A Mes Parents!

Papa, Maman,

Pour tout le respect, l'amour et l'admiration que je vous porte au fond de mon cœur.

Pour toutes les difficultés et les obstacles que nous avons traversés ensemble.

Pour toutes les fois où vous m'avez fait sourire alors que l'hôpital m'attristait.

Pour tous ces jours, où avant d'être endormi, je n'avais qu'un souhait ... vous revoir.

Pour toutes les fois où vous m'avez poussé vers la réussite alors que la défaite m'attendait.

Pour toutes les duâas que vous avez prononcées ; pour toutes les fois où vous m'avez soutenu.

Pour l'éducation que vous m'avez transmise, les sacrifices que vous avez dû faire et l'amour que vous m'avez porté depuis ma plus tendre enfance ... Qu'**Allah** vous Protège et vous comble de Bonheur!

A Mes Frères et Mes Sœurs que j'aime!

Karim, Kamel, Mériam et Yasmine

A Mes Amis qui sont devenus Mes frères de cœur!

DJERIBIAI Amor - GHERBIA Nacer - SAADAOUI Abderrahmane - BECHICHI Mohamed -DJELLAL Hatem - BEIDA Oussama - AKKAF Khaled - HARMI Rabah - FERHAT Abdelfettah - AYACHE Mohamed - GHILOLUBI Samir - DEMIAI Amar - TALHA Youcef -BOUCHAREB Abdallah - AFANE Larbi - BRAHIMI Nacer Eddine - BOUALAM Aymen -BOUTTABA Marouane Abdelhakim - ZAHZAH Abdelhak - KIR Younes - BENDAHMANE Abdelhafedh - GUETTAY El-Bachir Ennadhir - KERBAA Yakoub - SALEM Mohamed El-Riadh - MOSBAHI Taki-Eddine - SOUDANI Oussama Abdelmouiz - SAADI Djamel Eddine - CHALLA Mohamed Elamine - BOUZIGA Zineddine - EL AMRI Omar -LAHLOUH Belkhyre - SALLAH Baha-Eddine - BENGUEGA Salah - KHERTHOUCHE Saad Eddine - RAHALI Nour Eddine - KASSOSI Oussama - KADRI Mohamed Chemseddine - LOUCIF Hamza - ACHOUR Abderrahim - MANSOUL Azzedine -ABDELAZIZ Salah - BEKAKRA Mohamed El-Ghali - BENZETTA Nabil - SOUFI Moncef -SOLTANE Oussama - HACHANI Ahmed - HACHANI Younes - DERRIDJ Ilyes - BOURMA Ilyes - ALI Kamel - ZIDANE Ahmed Islam - LASSEL Moundher - CHERGUI Ahmed -CHAABANE Abdelkader - MERIDJA Abderrahman - GHACHA Hamza - ROUINA Mohamed - BOUMAARAF Oussama - KOUADRIA Hamza - KOUADRIA Omar - CHORFI Marouane - CHETOUH Salim - ACHOUR Boudiaf - BENYOUSRI Abdelaziz - ADJROUD Sari - OKBA Mohamed Islam - MAAMACHE Abdellatif - HIRECHE Mounir - KHALIFA Issam - MAOUCHE Akram - RIGAT Yassine - BRAHIMI Ismaïl - MEDJGHOU Chaabane -REKIS Said - CHENIA Abbas - ZOGHLAMI Abd Ennour - DJABRI Hachem.

A tous Ceux et Celles que j'estime et que je n'ai pas cité!

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliograph	ique
Chapitre 01 : Palmier dattier	
1.1. Taxonomie de la plante	3
1.2. Morphologie de la plante	
1.2.2. Organes floraux	3
1.2.3. Fruit (datte)	4
1.3. Sélection des mâles chez le palmier dattier	4
Chapitre 02 : Palynologie	
2.1. Palynologie	5
2.2. Applications palynologiques	5
2.3. Pollen	6
2.4. Pollen du palmier dattier	6
2.5. Morphologie et structure du pollen	6
2.5.1. Critères de distinction	7
2.5.2. Critères de qualité	7
2.6. Viabilité du pollen	8
2.6.1. Test de coloration	8
2.6.1.1. Coloration basée sur une réaction enzymatique	8
2.6.1.2. Coloration cytoplasmique	8
2.6.2. Test de germination	9
2.6.2.1. Test de germination <i>in vitro</i>	9
2.6.2.2. Test de germination in vivo	9
2.7. Etude biochimique du pollen	9

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 03 : Matériel et Méthodes

3.1. Présentation de la région d'étude	11
3.1.1. Situation géographique de la station d'El Barkajia (Région d'El Meghaier)	11
3.1.2. Facteurs climatiques	12
3.1.2.1. Température	12
3.1.2.2. Pluviométrie	13
3.1.2.3. Diagramme ombrothermique	14
3.1.2.4. Indice d'aridité de De Martonne	15
3.1.3. Reliefs	15
3.1.4. Sols	15
3.1.5. Ressources hydriques	15
3.2. Méthodes :	
3.2.1. Méthode d'échantillonnage	
3.2.2. Préparation des extraits bruts	16
3.2.2.1. Extraction « hydro-éthanoïque » des grains de pollen d'El-Meghaier	16
3.2.2.2. Modes d'extraction du pollen de palmiers dattiers	17
3.2.3. Etude des polyphénols	19
3.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux	19
3.2.3.2. Identification des composés phénoliques	19
3.2.4. Etude des flavonoïdes	20
3.2.4.1. Dosage des flavonoïdes totaux	20
3.2.4.2. Identification des flavonoïdes	20
3.2.5. Etude des protéines totales	21
3.2.6. Etude des sucres	21
3.2.6.1. Dosage des sucres totaux	21
3.2.6.2. Dosage des sucres réducteurs	22
3.2.6.3. Dosage de saccharose	23
3.2.7. Test de germination du pollen <i>in vitro</i>	23

Chapitre 04 : Résultats et discussion

4.1. Extraction pollinique	25
4.2. Etude des polyphénols	25
4.2.1. Teneur en polyphénols totaux	
4.2.2. Identification des polyphénols	28
4.3. Etude des flavonoïdes	29
4.3.1. Teneur en flavonoïdes totaux	29
4.3.2. Identification des flavonoïdes	32
4.4. Etude des protéines totales	35
4.5. Etude des sucres	39
4.5.1. Teneur en sucres totaux	39
4.5.2. Teneur en sucres réducteurs et non réducteurs.	41
4.6. Test de germination in vitro	42
Conclusion	48
Références bibliographiques	50
Annexes	

Résumés

Liste des tableaux

Tableau 1. Systematique complete du paimier dattier
Tableau 2. Température moyennes par mois de la région d'El Meghaier (Oued Righ) de 2008
à 2019 (O.N.M.Touggourt, 2020)
Tableau 3. Précipitations moyennes et taux d'humidité moyens de la région d'El Meghaier
(Oued Righ) de 2008 à 2019 (O.N.M.Touggourt, 2020)
Tableau 4. Modes de préparation des extraits de pollen de mâles <i>Phoenix dactylifera</i> L. par
macération
Tableau 5. Méthodes de dosages des sucres totaux du DPP de deux pays22
Tableau 6. Teneur en polyphénols totaux dans le pollen de palmiers dattiers25
Tableau 7. Teneur en polyphénols totaux extrait par 6 solvants différents
(Daoud et al., 2015)
Tableau 8. Identification et teneur en polyphénols dans le pollen de palmiers dattiers 28
Tableau 9. Teneur en flavonoïdes totaux dans le pollen de palmiers dattiers30
Tableau 10. Teneur en flavonoïdes totaux extrait par 6 solvants différents
(Daoud et al., 2015)31
Tableau 11. Teneur en familles flavonoïques par dosage différentiel (Bentrad et al., 2017). 32
Tableau 12. Identification et teneur en flavonoïdes dans le pollen de palmiers dattiers 33
Tableau 13. Teneur en protéines totales de différents pollens de cultivars irakiens
Tableau 14. Teneur en protéines totales de différents pollens de cultivars égyptiens 36
Tableau 15. Tests de dosage protéique du pollen sur différents solvants d'extraction
(Al-Samarrai et al., 2016)
Tableau 16. Teneur en sucres totaux du pollen de palmiers dattiers
Tableau 17. Teneur en sucres totaux du pollen de palmiers dattiers dans 4 régions d'Egypte.
39
Tableau 18. Teneur en sucres réducteurs et non réducteurs du pollen de palmiers dattiers
égyptiens (Ibrahim et al., 2013)
Tableau 19. Pourcentage de germination (PG%) des pollens de différents « Dokkars »
algériens
Tableau 20. Pourcentage de germination des pollens de différents cultivars égyptiens
(Ibrahim et al., 2013)
Tableau 21. Pourcentage de germination avec variabilité du sucre des milieux
(Mesnoua et al., 2018)

Liste des figures

Figure 1. C	arte géographique d'El Meghaier, Vallée d'Oued Righ (Google Maps, 2020)	11
Figure 2. Si	ituation géographique de la station d'El Barkajia, El Meghaier	12
Figure 3. D	viagramme Ombrothermique de la région d'El Meghaier (Oued Righ), au cours d	le
la période 20	008-2019	14
Figure 4. Po	ourcentage de germination des pollens de 3 cultivars dans des milieux différents	
en sucres (Is	smaïl, 2014).	47

Liste des abréviations

ADN Acide désoxyribonucléique

AlCl3 Chlorure d'aluminium

ANA Acide naphtalène acétique

ANRH Agence nationale des ressources hydrauliques

AOAC Association officielle de la chimie analytique

BKM Brewbaker and Kwack modifié

C° Degré Celsius

Ca (NO₃)₂ Nitrate de calcium

DPP Pollen de palmier dattier

EAG Equivalent d'acide gallique

EQ Equivalant de quercétine

ER Equivalent de rutine

F-C Réactif de Folin-Ciocalteu

Fig. Figure

Gx Grossissement

H₃BO₃ Acide borique

H₃PM₁₂O₄₀ Acide phosphomolybdène

H₃PW₁₂O₄₀ Acide phosphotungstène

HCl Acide chlorhydrique

HPLC Chromatographie en phase liquide à haute performance

I Indice d'aridité de De Martonne

INRA Institut national de la recherche agronomique algérien.

KNO³ Nitrate de potassium

M Masse exprimée en grammes

MADRP Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pêche.

Mg (SO₄) Sulfate de magnésium

MS Matière sèche

NaOH Hydroxyde de sodium

ONM Office national de la météorologie

P Cumul des précipitations

PEG Polyéthylène glycol

PG% Pourcentage de germination.

PH Potentiel d'hydrogène

R% Rendement exprimé en pourcentage

rpm Rotations par minutes

T Températures moyennes

T° Température

Tab. Tableau

TNFα Facteur de nécrose tumorale Alpha

UV Ultraviolet

Vis Visible

Introduction

Introduction

Le palmier dattier (*Phœnix dactylifera* L.) ou plus simplement dattier est une plante à la fois antique et mythique, appartenant à la famille des Arécacées, c'est l'une des plus anciennes espèces végétales cultivées. Il est considéré comme l'arbre fruitier du désert par excellence. D'une part, fournissant la datte dont les qualités alimentaires sont indéniables, et assurant une place stratégique dans la stabilité socioéconomique de l'agrosystème oasien pour les sociétés traditionnelles du Sahara. D'autre part, le dattier est le symbole de l'agriculture oasienne, présentant l'immense bénéfice de lutter contre la désertification par l'interception du rayonnement solaire intense et la mise en place d'un « barrage vert et productif », où il joue un rôle écologique unique en y limitant la progression des espaces steppiques et l'ensablement des terres agricoles.

En Algérie, la phoeniciculture occupe le premier rang dans l'agriculture saharienne et une place importante dans le système de production agricole, plus encore elle occupe une superficie de 167 269 hectares avec 18,5 millions de palmiers et une production de 1 029 596 tonnes (M.A.D.R.P., 2017).

La wilaya d'El Oued prend la deuxième place du classement comprenant les 16 wilayas nationales produisant des dattes, avec une production annuelle dépassant les 2.6 millions de quintaux. C'est Biskra qui tient la tête du classement avec une production de 4.38 millions de quintaux et Ouargla qui occupe la troisième position avec 1.4 millions de quintaux par an (Haddoud, 2018).

Le palmier dattier (*Phænix dactylifera* L.) est une espèce monocotylédone et dioïque ; comprenant les palmiers mâles, produisant les pollens et les palmiers femelles, produisant les dattes. Depuis l'antiquité, les prospections et les recherches menées sont orientées principalement vers les palmiers femelles « Nakhla » et rarement vers les mâles « Dokkars ». Ces derniers possèdent l'un des facteurs les plus influents pour améliorer la production et la qualité physico-chimique des fruits des cultivars.

Les palmiers mâles forment des populations hétérogènes rarement clonées dans lesquelles chaque individu possède ses propres caractéristiques, ils sont mal connus et parfois identifiés par le nom du cultivar femelle qui lui ressemble phénotypiquement (Boughediri, 1994).

La reproduction se fait souvent par graines sélectionnées selon leur période de floraison qui doit correspondre à celle des femelles, c'est-à-dire par synchronisme de la maturation, contrairement à d'autres pays producteurs de palmiers dattiers (comme l'Irak) où les cultivars

sont sélectionnés à partir des meilleures variétés femelles et leurs multiplications se font par rejets et ont des noms connus (Babahani , 1991).

De nos jours, les travaux ayant traités ce sujet portent essentiellement sur la distinction et la sélection des pollens, et ce, dans le but de dresser une liste des critères et propriétés caractérisant un pollen de bonne qualité afin de l'utiliser pour l'amélioration de la production ; il est clair que l'obtention de meilleurs rendements est liée au succès de la pollinisation ainsi qu'au choix judicieux du pollinisateur.

L'objectif de ce modeste travail consiste à doser et identifier le contenu pollinique en métabolite primaires (protéines, sucres) et secondaires (polyphénols, flavonoïdes), de quelques types de palmiers mâles de la région d'Oued Righ. Cette étude vient poursuivre et approfondir certains travaux antérieurs réalisés sur quelques populations de pieds mâles : Shaheen et El-Meleigi (1991) pour l'Arabie Saoudite ; Jassem et *al.* (2000), Abed (2005) et Al-Tahir et *al.* (2007) pour l'Irak ; Boughediri (1985 et 1994) pour la région de Biskra ; Babahani (2011) pour la région d'Ouargla ; Dib (1991) et Benamor (2016) pour la région d'El Oued.

La présente étude, comporte :

- Une partie bibliographique englobant les généralités sur le palmier dattier, dans un premier chapitre et celles sur la palynologie, dans un deuxième chapitre.
 - Une partie expérimentale subdivisée en deux chapitres :

L'un présentant la rubrique « matériel et méthodes » apportant les détails sur la mise en place d'une analyse biochimique sur les pollens de différents pays, portant sur le dosage des polyphénols, flavonoïdes, protéines et sucres ainsi que sur un test de germination *in vitro* pour contrôler la viabilité de ces types.

L'autre est basé sur le travail en laboratoire qui n'a malheureusement pas pu être effectué en raison de la crise sanitaire, provoquée par la pandémie virale « Covid-19 », qu'ont connu le pays et le monde entier, entraînant la fermeture de toutes les institutions. La rubrique « résultats et discussion » est donc une synthèse de recherche fondamentale arborant et discutant les résultats de 26 publications scientifiques traitant d'un ou de plusieurs paramètres faisant l'objet de cette étude.

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 01: Palmier dattier

Chapitre 1 Palmier dattier

Chapitre 1 : Palmier dattier

1.1. Taxonomie de la plante

Le palmier dattier (voir Tab. 1) est connu en botanique sous le nom de *Phoenix dactylifera* L. (Linné, 1753). Le terme « *Phoenix* » dérive du palmier de la Grèce antique, à cette époque considéré comme « l'arbre des Phéniciens ». Concernant le terme « *dactylifera* », il s'agit en latin du doigt, ceci en raison de la forme de son fruit, la datte (Munier, 1973).

La famille des Arécacés est unique de par son extrême diversité regroupant pas moins de 2800 espèces réparties en 226 genres (Rival, 2010).

Unité de Classification	Appellation latine
Règne	Plantae
Sous-Règne	Embryobionta
Embranchement	Spermaphyta
Sous-Embranchement	Angiospermaphytina
Classe	Liliopsida
Ordre	Arecales
Famille	Arecaceae
Genre	Phoenix
Espèce	Phoenix dactylifera

Tableau 1. Systématique complète du palmier dattier.

1.2. Morphologie de la plante

1.2.1. Système végétatif

Le palmier dattier est une plante à la croissance lente dépendant du milieu, de l'âge, et des conditions de culture. Le stipe est celui d'un arbre monopodique; le tronc est élancé et de forme cylindrique, d'une longueur allant de 1 à 30 m et d'un diamètre de 45 à 55 cm. Les palmes sont aux nombres de 70, disposés en spirale, d'une longueur de 3.5 à 4.5 m, garnies, en moyenne, de 173 folioles pliées en gouttière (Boughediri, 1985).

1.2.2. Organes floraux

L'espèce végétale est arborescente et diploïde ; 2n = 36 chromosomes (Alkhalifah et Askari, 2003). La spathe est une gaine qui entoure les inflorescences, qui sont des fleurs insérées sur un axe charnu ramifié (voir Annexe 1).

La fleur femelle est de forme globuleuse comportant un calice court ayant trois sépales soudés, une corolle ayant trois pétales ovales et six staminodes (étamines avortées). Le gynécée contient trois carpelles refermant chacun un ovule inséré à la base de l'ovaire.

Chapitre 1 Palmier dattier

La fleur mâle est de forme allongée comprenant un calice court ayant trois sépales soudés, une corolle à trois pétales et six étamines à déhiscence interne (Boughediri, 1985).

1.2.3. Fruit (datte)

Les dattes sont regroupées en régimes qui sont constitués d'un axe principal ramifié en pédicelles. Un arbre contient 10 à 20 régimes de 30 à 80 cm de long et 20 à 60 fleurs donnant 2 à 60 fruits. Le mâle « Dokkar » porte le pollen et la femelle « Nakhla » porte le fruit.

Le fruit est une baie de forme fuselée à ovoïde allongée. A maturité, la datte se ride et se ramollit légèrement. La partie comestible est une pulpe translucide, la partie non comestible est le noyau. La graine (noyau), une par fruit, lisse, dure, cornée, fusiforme, est pointue aux deux extrémités, et dispose d'un sillon ventral et d'un embryon dorsal (Bouguedoura, 1991).

1.3. Sélection des mâles chez le palmier dattier

Une pollinisation contrôlée par l'Homme est nécessaire chez le palmier dattier. Pour la sélection des mâles performants, 5 points sont à retenir selon Peyron (1989):

- **Epoque de floraison :** Cette époque doit être synchrone avec l'éclatement des premières spathes femelles : il s'agit de la période de réceptivité des inflorescences des palmiers dattiers femelles. Les mâles sont plantés du côté le plus ensoleillé et dans les mêmes conditions culturales que les femelles pour accélérer la floraison.
- Vigueur du mâle et production du pollen : Un mâle vigoureux c'est-à-dire « bien planté », pour l'obtention d'un grand nombre d'inflorescences de bonnes tailles et de beaucoup de pollen. Les fleurs doivent bien adhérer à l'épillet. Le dattier mâle sélectionné doit produire au minimum 500 g de pollen et ceci de manière régulière, c'est-à-dire chaque année.
- Qualité germinative du pollen : La valeur germinative du pollen dépend du pouvoir de fécondation. La qualité du pollen est donc testée à travers deux tests complémentaires ; le test de germination *in vitro* et le test de fécondation *in vivo*.
- Compatibilité et métaxénie : La capacité d'une bonne pollinisation d'un mâle dépend de la variété de la femelle. Le test des paramètres métaxéniques révèle les performances du pied mâle sur une variété précise en évitant les effets indésirables.
- Viabilité et conservation du pouvoir germinatif : La viabilité d'un pollen dépend des conditions de conservation et de stockage. A l'air libre, le pollen garde son pouvoir germinatif durant une période allant de 4 à 6 mois. Toutefois, conservé dans un bocal étanche, à une température de 3 à 8°C, son pouvoir germinatif peut durer beaucoup plus longtemps.

Chapitre 2 : Palynologie

2.1. Palynologie

Ce sont les deux botanistes Hyde et Williams qui, en 1944, ont initié une nouvelle filière de recherche scientifique sous l'appellation de palynologie.

Ce terme signifie « l'étude de la poussière », où bien la discipline qui étudie le pollen ainsi que les spores. Etymologiquement parlant, le terme palynologie est tiré de deux mots du grec antique. L'un « *palunein* » signifiant saupoudrer et l'autre « *logos* » qui est synonyme de discours (Meyer et *al.*, 2004).

Cette discipline est très vaste car elle n'étudie pas seulement les grains de pollen et les spores mais aussi les fossiles de ces derniers, voire même d'espèces végétales ayant aujourd'hui disparues de la surface de notre planète. Dès lors, la palynologie peut être située à l'interface de nombreuses filières de recherche comme notamment la botanique, la géologie ou encore l'archéologie.

2.2. Applications palynologiques

De nos jours, le champ d'investigation de la palynologie s'est largement étendu à tous les éléments fossilisés constitués d'une paroi organique, résistant aux processus d'extraction aux moyens d'acides puissants comme l'acide fluorhydrique ou encore l'acide nitrique.

La palynologie comporte de nombreux domaines d'application selon Barbier-Pain (2009):

- ✓ Palynologie fondamentale: apporte des éléments très utiles dans les études de systématique végétale.
- ✓ **Paléopalynologie :** étude des pollens fossiles, cette science permet de donner des informations sur le climat, la végétation et le paysage au cours de l'ère quaternaire.
- ✓ **Aéropalynologie :** consiste à l'analyse de la présence dans l'air de différents types de pollens à des fins médicinales (pathologies allergiques) et agronomiques (pollinisation).
- ✓ **Méllisopalynologie :** étude des pollens en présences dans le miel, ce qui permet une analyse qualitative du produit et donc de détecter les mélanges et les fraudes.
- ✓ Palynologie légale : se base sur l'étude pollinique permet l'aboutissement d'enquête judiciaire comme ce fût le cas pour des crimes.

2.3. Pollen

D'un point de vue étymologique, le pollen, du grec « *polynos* », est une poussière très fine et généralement blanche où jaunâtre, produite dans les loges des anthères et dont chaque grain microscopique est un utricule, ou petit sac membraneux, contenant le fluide fécondant (Bouillet, 1859).

D'un point de vue botanique, le pollen peut être définit comme une sorte de poudre formée par des grains de pollen libérés par les étamines des plantes à graines. Le pollen est alors reconnu tel un gamétophyte mâle de spermaphyte (Pesquidoux, 1925). Une autre approche du sujet peut aussi être prise en compte : présentant les grains de pollen comme de minuscules particules produites par les anthères et contenant les gamètes mâles (Halimi, 2004).

D'un point de vue génétique, les grains de pollen, qui représentent l'unité fondamentale du pollen, sont issus d'une division de réduction haploïde (méiose), ceci parce que leurs cellules n'ont qu'un simple ensemble de chromosomes.

D'un point du vue chimique, l'analyse globale du pollen permet la détermination de sa composition chimique moyenne (voir Annexe 2) (Pons , 1970).

2.4. Pollen du palmier dattier

La nature dioïque du palmier dattier a poussé l'Homme à procéder lui-même à sa pollinisation. Pour se faire, les phoeniciculteurs, cultivateurs de palmiers dattiers, utilisent les pollens (voir Annexe 3) issus de différents mâles « Dokkar » (Boughediri, 1991).

Les résultats obtenus sont donc très aléatoires à cause de la qualité des pollens utilisés. C'est notamment dans le but d'améliorer le rendement agricole que les palynologues avancent une description morphologique du pollen de palmier dattier ainsi que la définition des critères de distinction et de qualité entre les clones (Pons , 1958).

2.5. Morphologie et structure du pollen

Les grains de pollen se forment dans les étamines. Les cellules de grandes tailles présentes à l'intérieur des anthères subissent une différenciation. Par la suite, plusieurs divisions mitotiques se succèdent pour aboutir à l'obtention des cellules-mères de grains de pollen diploïdes. Chaque cellule-mère se divise deux fois au cours des cycles méiotiques et donne naissance à quatre petites spores haploïdes, sous l'appellation de microspores constituant une tétrade (Agashe et Caulton, 2009).

Génétiquement parlant, une mitose de cette microspore donne deux cellules intervenant dans la fécondation des organes femelles (voir Annexe 4) : la cellule germinative de grande

taille et la cellule génératrice de petite taille. Les réserves s'accumulent dans la cellule végétative contrairement à la cellule génératrice qui en est dépourvues. Au niveau de chaque microspore, il y a l'élaboration d'une enveloppe externe complexe, cette dernière est constituée de deux parties distinctes (Genevès, 1997) :

- ✓ L'intine, constituée essentiellement de polysaccharides est peu résistante, et n'est donc pas apte à la fossilisation.
- ✓ L'exine, formée de sporopoliénine qui est une matière organique terpénique polymérisée, ne peut être détruite que par oxydation. Elle est dotée d'une grande capacité de résistance, ce qui la rend apte à la fossilisation.

Le grain de pollen a été utilisé pour identifier le genre du palmier dattier grâce à une observation au microscope électronique à balayage ; la différenciation a été possible par l'établissement de l'ultrastructure des grains de pollen (Shaheen, 1983).

Selon les travaux de Boughediri (1994), le pollen de palmier dattier est de type hétéropolaire monocolpé, possédant une aperture en forme de sillon longitudinal, présentant un tectum de type perforé. Concernant la forme, le nombre et la lumière des perforations, il y a une variation d'un pollen à l'autre.

L'ensemble des caractères cités ci-dessus a été utilisé pour la réalisation d'une distinction systématique ainsi qu'une estimation de la qualité des pollens des palmiers dattiers mâles.

2.5.1. Critères de distinction

Afin de distinguer les grains de pollen, une observation microscopique sur quatre types de pollen a permis de mettre en place une discrimination basée sur quatre critères de distinction : la taille du grain de pollen, l'épaisseur du sporoderme, l'ornementation du tectum (sa forme, sa taille et la disposition des perforations), la composition chimique et plus précisément protéique de l'exine (Boughediri, 1985).

2.5.2. Critères de qualité

Enfin pour estimer la qualité d'un pollen, les scientifiques divergent légèrement quant aux nombres de critères à observer. Cependant, le travail avancé par Shivanna et Cresti (1989) en retient cinq : le pourcentage de viabilité, l'état cellulaire (bicellulaire), l'état du sporoderme (épais), la vigueur du pollen, la vitesse d'élongation du tube pollinique.

2.6. Viabilité du pollen

Connaître la viabilité d'un pollen, c'est être informé sur le plus important de ses critères qualitatifs. La qualité du pollen est définie comme l'aptitude du pollen à féconder un pistil réceptif et compatible (Boughediri, 1994).

La structure cellulaire d'un pollen peut être bicellulaire ou tricellulaire. L'étude cytologique des pollens du palmier dattier montre que l'état biologique, à l'ouverture des spathes et à la déhiscence des anthères, correspond à un stade bicellulaire (Bouguedoura, 1991 et Boughediri, 1994).

Une étude Algérienne a, quant à elle, permit l'identification des conditions optimales de maintien de la viabilité du pollen de palmier dattier, c'est-à-dire, à la réalisation d'une modélisation multiparamétrique (lyophilisation, température, atmosphère gazeux, temps) à partir de lois statistiques simples (Boughediri et *al.*, 2009).

2.6.1. Test de coloration

Le test de coloration (test colorimétrique), indique le pourcentage de grains de pollen viables. Ce test est basé sur la coloration chimique des constituants vivants composant le pollen (Chaouch Khouane, 2012). Il est composé de deux variantes :

2.6.1.1. Coloration basée sur une réaction enzymatique (Stanley et Linskens, 1974)

Cette forme du test est basée sur la spécificité; en effet, certains colorants réagissent en présence d'une molécule organique spécifique (Colas et Mercier, 2000). La concentration de la molécule en question détermine l'intensité de la coloration qui indique l'état de la maturation du grain de pollen. Pour ne citer qu'un exemple, l'isatine est un colorant spécifique de la proline (Pálfi et Gulyas, 1985).

2.6.1.2. Coloration cytoplasmique

Cette variante se base sur la mise en évidence du cytoplasme en présence dans la cellule végétale, son objectif étant la détermination des grains fonctionnels mais aussi la stérilité éventuelle de certains (Cerceau-Larrival et Challe, 1986).

Il est important de remarquer que les tests colorimétriques ont deux avantages : la rapidité et le faible coût.

2.6.2. Test de germination

2.6.2.1. Test de germination in vitro

Le test de germination *in vitro* est utilisé pour évaluer l'aptitude des grains de pollen à germer, il se traduit par une étude en laboratoire, de l'activité, de la formation et de la croissance du tube pollinique (Mesquida et Renard, 1989).

Un grain de pollen (voir Annexe 5) est considéré comme étant germé lorsque son tube pollinique devient plus long que son diamètre (Taylor et Hepler, 1997).

La réussite du test de germination dit *in vitro* dépend concrètement de plusieurs facteurs comme la température d'incubation, le pH, la pression osmotique, la teneur en eau, la composition en minéral, la technique et la densité d'ensemencement pour ce qui concerne la manipulation, sans oublier les facteurs liés directement à l'échantillon de pollen (Boughediri, 1994).

2.6.2.2. Test de germination in vivo

Le test de germination *in vivo* à la particularité d'être plus difficile à mettre en place. Cette méthode indique par comparaison relative la capacité d'un pollen à féconder correctement les inflorescences des palmiers dattier femelles (Peyron, 2000).

Le principe est de tester sur un même arbre (palmier dattier femelle) plusieurs échantillons de différents pollens.

Le taux de nouaison est calculé, pour chaque échantillon de pollen, sur chacun des régimes d'un même palmier et ce d'après la formule suivante :

Nouaison% = (Nombre de fleurs nouées / Nombre total de fleurs) x 100

2.7. Etude biochimique du pollen

L'identification des palmiers dattiers mâles est d'une importance majeure pour les cultivateurs ainsi que pour le développement de la productivité des dattes. Aujourd'hui encore, l'essentiel des informations concernant l'identification des « Dokkars » provient des agriculteurs locaux et est donc archaïque.

La connaissance des profils d'électrophorèses des protéines contenus dans les grains de pollen représente une approche pour l'identification des espèces et pour le retraçage de l'évaluation des divers groupes de plantes et, notamment, du palmier dattier (El-Meleigi, 1985).

Ceci souligne donc l'importance d'une identification électrophorétique des protéines en présence dans le pollen du palmier dattier.

A travers l'histoire, seul un petit nombre de recherche scientifique s'est intéressé à une étude à caractère biochimique du pollen de palmier dattier.

- **a.** Une étude iraquienne portant sur cinq cultivars de palmiers mâles a permis de mesurer la quantité de protéine en présence dans le pollen. Le résultat montre une disparité remarquable entre les différents cultivars. La concentration moyenne en protéine est élevée pour les deux variétés ; « El-Ghanami El-Ahmar » et « El-Ghanami El-Akhdar », quant aux trois autres ; « Khakry El-Adi», « Khakry El-Wardi » et « Khakry El-Smissi » la concentration moyenne protéique est basse (Jassem et *al.*, 2000).
- **b.** Une seconde étude dans le même pays portant sur les 3 cultivars nommés « El-Ghanami El-Akhdar », « El-Ghanami El-Ahmar » et « Khakry El-Adi », a prouvé que le nitrogène (azote) représente 16% du poids total des protéines du pollen de ces trois cultivars et a permis la quantification protéique totale du pollen de dattiers mâles (Abed, 2005).
- **c.** Une étude en Arabie Saoudite, étudiant le taux de protéine dans le pollen de 10 variétés de palmier différents, a permis d'obtenir une idée sur la diversité des protéines contenues dans le pollen et de confirmer la présence de nitrogène (Al-Tahir et *al.*, 2007).
- **d.** Une étude nationale qui porte sur l'effet protecteur du pollen de palmier dattier sur une population de lapins adultes mâles exposée, préalablement, au *diéthyle de phtalate* (substance chimique très toxique), confirme que le pollen de palmier dattier peut effectuer des changements dans la fonction immunitaire et affirme qu'un traitement de ce type peut atténuer les effets délétères du *diéthyle de phtalate* (Bentayeb et *al.*, 2019).
- e. Une autre étude nationale portant sur 3 pollens de types phénotypique : « Ghars », « Deglet Nour » et « Degla Beida » avance que « Ghars » est la variété au meilleur caractère biométrique et que « Deglet Nour » est celle au meilleur caractère physiologique. L'étude de l'activité anti-oxydante et antibactérienne montre, respectivement, que l'extrait méthanolique et l'extrait chloroformique ont un effet inhibiteur (Benzahia et Taibi, 2019).
- **f.** Une étude tunisienne s'est intéressée aux propriétés médicinales du pollen de palmier dattier connu dans le monde Arabe pour ses vertus fertilisantes. Grâce à une analyse aux rayons X, l'étude à permit de démontrer les qualités nutritives et pharmaceutiques du pollen de « Dokkars » ainsi que son utilité dans les compléments alimentaires pour les régimes adaptés aux sportifs de haut niveau (Sebii, et *al.*, 2019).

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

3.1. Présentation de la région d'étude

3.1.1. Situation géographique de la station d'El Barkajia (Région d'El Meghaier)

Oued Righ, est une entité agro-écologique désignant une vallée située au Nord-Est du Sahara algérien, le long du Grand Erg oriental composée d'immenses étendues de palmeraies. Cette région est axée sur la culture du palmier dattier, vocation très ancienne comme en témoigne le texte d'Ibn Khaldoun qui a décrit ces palmeraies lors de son séjour à Biskra au XIVème siècle (Merrouchi, 2009).

La vallée d'Oued Righ est située à cheval sur les wilayas d'Ouargla et d'El Oued. Elle est étendue sur une longueur de 136 km pour une largeur variant de 15 à 30 km, comptant un ensemble d'une cinquantaine d'oasis.

El Barkajia, est la station d'étude choisie pour la mise en place de la présente recherche palynologique, est l'un des oasis contribuant à la formation de la succession de chapelet de dépressions humides et salées ainsi que de palmeraies de la région d'Oued Righ (Dubost, 1991).

Cette palmeraie, se situe au Nord-Est de la vallée d'Oued Righ. Elle se trouve à 15 km à l'Est de la ville d'El Meghaier. Les coordonnées géographiques de la palmeraie sont : 33,93145° de latitude Nord et 5,78430° de longitude Est, à une altitude de 33,78 m au-dessus du niveau de la mer (voir Fig. 1 et 2).

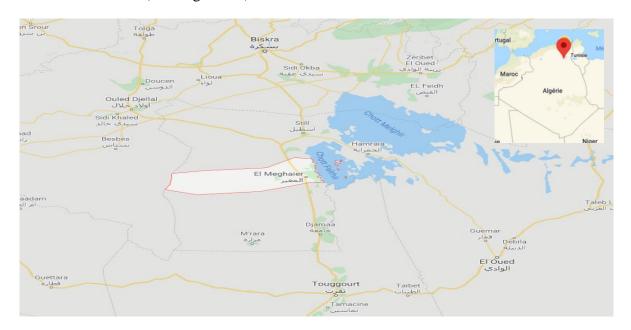


Figure 1. Carte géographique d'El Meghaier, Vallée d'Oued Righ (Google Maps, 2020)



Figure 2. Situation géographique de la station d'El Barkajia, El Meghaier (Google Earth, 2020)

3.1.2. Facteurs climatiques

Le Sahara, au sens large, est caractérisé par des périodes de sécheresses prolongées. Le Sahara algérien correspond à un désert zonal dans la typologie des zones désertiques.

La sécheresse est d'abord un fait climatique majeur actuel régnant dans de nombreuses zones du globe terrestre, elle est caractérisée par de faibles précipitations annuelles, à distributions très irrégulières dans le temps comme dans l'espace (Faurie et *al.*, 1980).

Les informations apportées par les facteurs climatiques sont indispensables pour connaître les conditions de survie des espèces végétales, comme le palmier dattier, ainsi que leurs conditionnements et leurs distributions. Nous avons jugé intéressant d'avancer les principaux facteurs climatiques de la région d'Oued Righ.

3.1.2.1. Température

La température moyenne annuelle (voir Tab. 2) pour El Meghaier (Oued Righ) est de 22.89°C. Les données climatologiques montrent que la température moyenne maximale est enregistrée durant le mois de juillet (le mois le plus chaud) avec 34.94°C, alors que la température moyenne minimale est enregistrée au cours du mois de janvier (le mois le plus froid) avec 11.46°C.

Tableau 2. Température moyennes par mois de la région d'El Meghaier (Oued Righ) de 2008 à 2019 (O.N.M.Touggourt, 2020).

Mois	T° Minimales (°C)	T° Maximales (°C)	T° Moyenne (°C)
Janvier	05.21	18.30	11.46
Février	06.62	19.69	13.10
Mars	10.46	24.04	17.45
Avril	14.90	29.16	23.22
Mai	18.96	33.21	26.46
Juin	23.85	38.48	31.58
Juillet	27.11	41.91	34.94
Aout	26.81	40.64	33.93
Septembre	23.30	36.44	29.91
Octobre	17.25	30.56	23.86
Novembre	10.60	23.42	16.79
Décembre	05.97	18.74	11.96
Moyenne	15.92	29.55	22.89

3.1.2.2. Pluviométrie

Les précipitations (voir Tab. 3) sont rares et irrégulières avec une moyenne de 3.24 mm et un cumul estimé à une valeur de 38.90 mm. La valeur maximale est enregistrée durant le mois d'avril avec 07.31 mm, alors que la valeur minimale est enregistrée au cours du mois de juillet avec 0 mm.

Tableau 3. Précipitations moyennes et taux d'humidité moyens de la région d'El Meghaier (Oued Righ) de 2008 à 2019 (O.N.M.Touggourt, 2020).

Mois	Précipitation (mm)	Humidité (%)
Janvier	02.59	57.48
Février	07.13	48.79
Mars	05.13	43.52
Avril	07.31	38.60
Mai	1.25	33.85
Juin	0.51	30.82
Juillet	0	27.63
Aout	0.44	31.50
Septembre	04.88	41.17
Octobre	02.62	47.69
Novembre	05.86	54.59
Décembre	01.18	61.60
Moyenne	03.24	43.10
Cumul	38.90	517.24

Concernant le taux d'humidité, il est important de savoir que la région d'El Meghaier (Oued Righ) est caractérisée par une faible humidité comme le montre la moyenne annuelle d'une valeur de 43.10%. Le pic d'humidité est atteint au cours du mois de décembre avec une valeur de 61.60%, alors que le mois le plus sec est juillet avec une valeur moyenne de 27.63%.

3.1.2.3. Diagramme ombrothermique

Un mois est considéré comme écologiquement sec, lorsque le cumul des précipitations (P), exprimé en millimètres, est inférieur ou égal au double de la température (T), exprimée en degré Celsius. L'intersection de la courbe thermique avec la courbe des précipitations (ombrique) détermine la durée de la période sèche (suite de mois considérés comme secs). D'un point de vue graphique, la présence de la courbe des températures au-dessus de celle des précipitations, caractérise la période sèche. Elle est exprimée par $P \le 2T$ (Bagnouls et Gaussen, 1957).

Concernant la zone d'étude d'El Meghaier (voir Fig. 3), le diagramme présente une courbe des précipitations largement inférieure à la courbe des températures, ainsi que l'absence de points d'intersection entre ces deux courbes et ce même en hiver. Ceci laisse apparaître que la période sèche dans cette région s'étale tout au long de l'année.

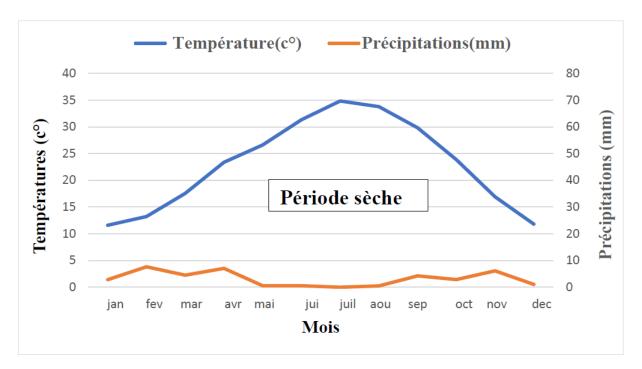


Figure 3. Diagramme Ombrothermique de la région d'El Meghaier (Oued Righ), au cours de la période 2008-2019.

3.1.2.4. Indice d'aridité de De Martonne

L'indice d'aridité de De Martonne, est utilisé comme un indicateur quantitatif du degré de manque d'eau, par conséquent, il permet donc de déterminer le degré d'aridité d'une région donnée. Il est défini comme le rapport entre l'accumulation des précipitations annuelles (P), exprimée en mm, et la moyenne des températures annuelles (T), exprimée en degré Celsius (Dajoz, 2006):

Indice d'aridité (I) = P / T + 10

Pour la région d'El Meghaier :

$$I = 38.90 / (22.89 + 10) = 1.18$$

Pour la région faisant le sujet de notre étude, l'indice d'aridité est de 1.18, d'après les données météorologiques concernant la période 2008-2019 (O.M.N. Touggourt, 2020).

Selon la classification climatique en fonction de l'indice de De Martonne proposé par Dajoz (2006). La valeur est incluse entre 0 et 5, cela apporte donc que la zone d'El Meghaier est soumise à un climat de type Hyper aride.

3.1.3. Reliefs

La région d'Oued Righ à une morphologie hétérogène, elle se présente comme une dépression (large fossé) orientée du sud vers le nord, composée de dunes de sable et de quelques plaines d'alluvions. La zone d'El Meghaier est connue sous le nom de « Bas Sahara », ceci par sa basse altitude moyenne et ses nombreux chotts où les altitudes sont inférieures à celle du niveau de la mer (Dubost, 2002).

3.1.4. Sols

Les sols de la région d'El Meghaier sont caractérisés par des apports éoliens sableux en surface. La texture des sols est considérée comme « grossière » par endroits avec parfois une teneur en gros sable qui dépasse les 90% (par rapport à la teneur en sable fin). Cette région est connue pour son importante teneur en gypse et sa très faible teneur en matières organiques, avec une valeur moyenne de 0.5% de la composition du sol. L'hétérogénéité de la texture des sols est due aux phases successives de l'érosion (Sogetha-Sogreah, 1971).

3.1.5. Ressources hydriques

La région d'Oued Righ est constituée d'une formation de plusieurs nappes souterraines superposées. Ces dernières sont, d'une part, dues à l'alternance des couches imperméables et

des couches aquifères, et d'autre part, de l'existence d'un fossé de subsistance. La zone d'Oued Righ Nord est desservie, en eaux souterraines, par trois principales nappes : l'une dite libre (phréatique) et deux dites capitales ; la nappe du complexe terminal et la nappe du continental intercalaire (A.N.R.H, 2006).

Pour plus de fluidité dans le développement de notre travail, nous avons décidé de ne pas faire apparaître l'énumération du matériel de laboratoire utilisé par les auteurs des différentes publications scientifiques. La crise sanitaire n'ayant pas permis la concrétisation de notre expérimentation en laboratoire, la rubrique « méthode », se présente sous forme synthétique en s'appuyant sur 26 articles publiés (voir Annexe 6).

3.2. Méthodes:

3.2.1. Méthode d'échantillonnage

Le matériel végétal sur lequel porte notre étude, est le grain de pollen de palmier dattier. Les grains de pollen utilisés sont issus de dix palmiers dattiers mâles différents, originaires de la région d'Oued Righ, plus précisément d'une palmeraie de la station d'El Barkajia, El Meghaier.

Les échantillons de pollen ont été prélevés à partir des spathes saisonnières (2ème spathes) de chacun des palmiers mâles sélectionnés pour l'étude. Ces palmiers sont du même âge et profitent des mêmes conditions environnementales (issue d'une seule palmeraie).

Les spathes, une fois retirées des palmiers, sont disposées chacune sur une feuille de papier blanche (chaque feuille est numérotée). Chaque échantillon est alors déposé dans une pièce bien ventilée, à l'abri de l'humidité et de la lumière, durant quelques jours. Les spathes sont quotidiennement remuées afin d'accélérer leurs séchages. Par la suite, le pollen sec issu des spathes rigoureusement secouées, est recueilli, tamisé, mis en flacon et stocké au réfrigérateur à 4°C pour y être conservé.

3.2.2. Préparation des extraits bruts

3.2.2.1. Extraction « hydro-éthanoïque » des grains de pollen d'El-Meghaier

L'extraction est réalisée selon la procédure décrite par Moreira et *al.* (2008). Cette méthode consiste à laisser le pollen macérer dans un mélange Ethanol/Eau (80%/20%). 10g de pollen de palmier dattier est versé et mélangé dans 100 mL de solution hydro-éthanoïque. La solution est alors mise sous agitation douce et déposée dans un réfrigérateur durant les 72h de la macération. Ensuite, la solution est filtrée par pompe sous vide et le filtrat est évaporé par évaporateur rotatif à 40°C.

Dans une ampoule à décanter, l'extrait précédemment obtenu est mélangé avec un solvant organique : l'Ether de pétrole, le tout est alors bien agité puis laissé au repos jusqu'à la séparation, c'est-à-dire l'obtention des deux phases : aqueuse et organique. Le but de cette étape est l'élimination des composés non phénoliques (pigments chlorophylliens, caroténoïdes, lipides ...). La phase inferieure est récupérée et évaporée par évaporateur rotatif à 40°C, pour éliminer l'éther de pétrole. Enfin, la solution est séchée à l'étuve pendant 24h à 40°C, et conservée au réfrigérateur à 4°C (Markham, 1982).

L'extraction hydro-éthanoïque, n'est réalisée que sur six des dix échantillons polliniques issus des « Dokkars » de la station d'El-Barkajia (El-Meghaier), causant ainsi l'impossibilité d'obtenir des valeurs significative quant au rendement d'extraction pour les pollens. En effet, c'est à ce point d'avancement précis que le travail en laboratoire est interrompu, en raison de la crise sanitaire sans précédent qu'a connu le monde.

3.2.2.2. Modes d'extraction du pollen de palmiers dattiers

Le rendement d'extraction est très relatif et depends de nombreux paramètres, dont les plus importants sont : la période de récolte du matériel végétal, les conditions de stockage des spathes contenant les grains de pollen et le mode d'extraction.

Concernant les publications abordant ce sujet (voir Tab. 4), l'essentiel des extractions sont réalisées par macération, grâce à l'utilisation de solvants organiques ou encore aqueux, comme pour Daoud et *al.* (2015) et Al-Samarrai et *al.* (2016). Ces derniers, réalisent l'extraction pollinique par 6 et 5 solvants différents, respectivement.

A propos de l'experimentation menée par Farouk et *al.* (2015), l'extraction est effectuée par distillation à la vapeur, selon le protocole de Giray et *al.* (2008), grâce à l'utilisation d'un Clevenger durant 3 heures. L'huile essentielle obtenue est alors scélée dans un tube par gaz nitrogène, recouverte d'aluminium et conservée à - 20°C.

Hifnawy et *al.* (2016), réalisent l'extraction pollinique sur des individus de l'espèce *Phoenix canariensis* L., par macération dans un solvant éthanoïque à 70%.

Tableau 4. Modes de préparation des extraits de pollen de mâles *Phoenix dactylifera* L. par macération.

Auteurs	Basuny et	Daoud et al.	Ghanema et	Al-Samarrai	El-Kholy et
	al. (2013)	(2015)	al. (2015)	et al. (2016)	al. (2019)
Extraction			Macération		
Poids	2 g	200 g	5 g	10 g	100 g
Solvants	Ethanol à	Chloroforme	Ethanol à	Chloroforme	Ethanol à
	70%	Ethanol	95%	Ethanol	80%
		Acétate		Acétate	
		d'éthyle		d'éthyle	
		Acétone		Eau	
		Hexane		Ether de	
		Eau		pétrole*	
Volume du	15 mL	800 mL	150 mL	50 mL	-
solvant					
Durée de la	30 min	24 h	24 h	24 h	24 h
macération				10 h*	
Appareillage	Bain-Marie	Evaporateur rotatif sous vide			Evaporateur -
d'évaporation					lyophilisateur
Température	70 °C	45 °C	50 °C	Ambiante	45 °C
d'évaporation				45-60 °C*	
Mode de	Tube à -5°C	-	Tube -20°C	-	Récipient
conservation					sombre 4°C
Références de	Park et al.	-	Rajeswari et	-	El-Neweshy
protocole	(1998)		al. (2012)		et al. (2013)
Valeurs spécifique	a à l'autraction du	nollan nar l'áthar	da mátrala, masur la	a traviani d'Al Cam	

^{*} Valeurs spécifiques à l'extraction du pollen par l'éther de pétrole, pour les travaux d'Al-Samarrai et al. (2016).

3.2.3. Etude des polyphénols

A travers les neuf publications faisant l'étude de ce paramètre, la teneur totale des composés phénoliques en présences dans les extraits est estimée de manière colorimétrique, grâce au réactif de Folin-Ciocalteu, selon le mode opératoire de Singleton et *al.* (1999). L'identification des composés phénoliques, quant à elle, est réalisée par HPLC, d'après le protocole de Goupy et *al.* (1999).

3.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La technique de Singleton et Rossi (1965), se base sur le principe d'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu (F-C), qui à l'origine est de couleur jaune (il s'agit d'un mélange d'acide phosphotungstène (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdène (H₃PM₁₂O₄₀)). Cette oxydation entraine alors la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu, qui absorbe à une longueur d'onde de 765 nm, comme cela est soutenu par Ribéreau-Gayon et Gautheret (1968).

Toutefois, la gamme d'étalonnage est réalisée à une longueur d'onde de 740 nm pour le travail de Basuny et *al.* (2013), qui utilise une concentration de 4% de carbonate de sodium ; 760 nm pour l'étude de Daoud et *al.* (2015), qui propose d'utiliser la version modifiée de Li et *al.* (2008), et 765 nm, pour les autres études qui respectent scrupuleusement le protocole original de Singleton et Rossi (1965) revue par Singleton et *al.* (1999). Ces derniers, proposent de mettre 200 μL de chaque extrait (1mg /1mL de solvant d'extraction) à dilution convenable, d'ajouter 1 mL de réactif de F-C dilué 10 fois, d'incuber le mélange 4 min avant d'ajouter 800 μL de carbonate de sodium (7,5%) pour finir par mesurer la densité optique au spectrophotomètre UV-Vis à 765 nm.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits sont calculés en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions opératoires que les extraits, en utilisant l'acide gallique (1mg /1mL) comme standard. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

3.2.3.2. Identification des composés phénoliques

Les composés phénoliques du pollen de palmiers dattiers présents dans les extraits éthanoïques (70%) des différents cultivars mâles sont identifiés par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) d'après le protocole décrit par Goupy et *al.* (1999), pour deux des trois articles concernés, l'autre se conformant à l'étude de Padda et Picha (2007).

L'élution est réalisée à 35°C grâce à des gradients d'acide acétique. Le volume de 10 µL est injecté, pour la réalisation du dosage, par étalonnage standard à une longueur d'onde de 280 nm pour les travaux d'El-Kholy et *al.* (2019) ainsi que de Kadry et *al.* (2019) et de 320 nm concernant l'étude d'Abou-Zeid et *al.* (2019), qui est basée sur le protocole proposé par Padda et Picha (2007). L'identification des principaux composants est effectuée par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux obtenus pour les standards. Le calcul de la concentration en chacun des composants phénoliques, est basé sur la mesure de la surface des pics des étalons et des échantillons. Pour toutes les études, les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

3.2.4. Etude des flavonoïdes

Neuf publications abordent ce sujet. La quantification des flavonoïdes totaux des extraits de pollen est réalisée de façon colorimétrique, pour trois articles, selon les techniques de Geissman (1962); Park et *al.* (1995) et Quettier-Deleu et *al.* (2000). L'identification des composés flavonoïques est réalisée d'après la méthode de Mattila et *al.* (2000).

3.2.4.1. Dosage des flavonoïdes totaux

Ces méthodes colorimétriques, utilisent un réactif à base de trichlorure d'Aluminium (AlCl3), qui va, lors du contact avec les flavonoïdes en présences, former un complexe de couleur jaune qui absorbe par spectrophotométrie dans le spectre visible (Vis) (Boulekbache, 2005), à une longueur d'onde allant de 415 à 430 nm. L'absorbance est calculée à 415 nm d'après Park et *al.* (1995), pour l'étude de Basuny et *al.* (2013) ; à 420 nm suivant le protocole de Geissman (1962), pour le travail de Hifnawy et *al.* (2016) et à 430 nm selon Quettier-Deleu et *al.* (2000), pour la recherche de Daoud et *al.* (2015). Les travaux axés sur *Phoenix dactylifera* L. utilisent la quercétine comme standard et celui axé sur *Phoenix canariensis* L. utilise la rutine.

Une gamme d'étalonnage est réalisée en parallèle, par les chercheurs, dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant la quercétine, ou la rutine, comme témoin positif, à différentes concentrations pour quantifier les flavonoïdes contenus dans les extraits. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) ou milligrammes équivalents de rutine par gramme d'extrait (mg ER/g MS).

3.2.4.2. Identification des flavonoïdes

Les composés flavonoïques du pollen de dattiers présents dans les extraits éthanoïques (70%) des différents palmiers mâles sont identifiés par chromatographie en phase liquide à

haute performance (HPLC) d'après le protocole décrit par Mattila et *al.* (2000), pour les cinq études traitant de cette identification.

L'élution des résidus est effectuée à 35°C, grâce à des gradients d'acétonitrile et d'éluant isocratique. Le volume de 10 μL est injecté, pour la réalisation du dosage, par étalonnage standard à une longueur d'onde de 205 nm, d'après Abbas et Ateya (2011) ; 265 nm, pour les travaux d'Al-Samarrai et *al.* (2017) et d'Otify et *al.* (2019) ; 280 nm, d'après Kadry et *al.* (2019) et 320 nm pour le compte d'Abou-Zeid et *al.* (2019). L'identification des principaux composants est effectuée par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux obtenus pour les standards. Le calcul de la concentration en chacun des composants flavonoïques est basé sur la mesure de l'aire des pics des étalons et des échantillons. Tous les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

3.2.5. Etude des protéines totales

Pour les huit articles proposant des résultats quant à la teneur en protéines totales des extraits, la détermination se fait d'après la méthode dite de Kjedahl, ou Micro-Kjedahl (N = 16%; coefficient multiplicateur = 6.25), comme cela fut rapporté par A.O.A.C. (1995).

Pour le dosage protéique, la teneur en azote est déterminée par spectrophotométrie. Sous forme minérale l'azote est détecté grâce à la présence d'un excès d'acide sulfurique concentré et chaud, lors d'une étape appelée ; minéralisation. Dès lors, en partant du principe que les composés azotés (nitrogène) représentent 16% de la masse protéique du pollen, il suffit alors de multiplier, par 6.25, la valeur obtenue pour en déduire la teneur en composés protéiques au sein des extraits polliniques.

L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde pouvant varier entre 465 et 595 nm, selon l'article traitée, en accord avec Lowry et *al.*, (1951). Les résultats sont exprimés en grammes par 100 grammes de matière végétale sèche (g/100 g MS) pour l'essentiel des études, sauf pour celle d'Abed (2005), qui utilise le pourcentage (%).

3.2.6. Etude des sucres

3.2.6.1. Dosage des sucres totaux

Pour la détermination de la teneur en sucres totaux présents dans les extraits, le dosage est effectué selon les méthodes de Dubois et *al.* (1956); Dreywood (1946) et Malik et Singh (1980). Toutes les teneurs sont exprimées en pourcentage de matière sèche (% MS). Les méthodes de quantification glucidique utilisées pour chacune des études (voir Tab. 5), sont répertoriées comme suit :

Auteurs	Pays (Région)	Méthode
Abed (2005)	Irak	Dubois et <i>al.</i> (1956)
	(El-Bassrah)	
Ibrahim et <i>al.</i> (2013)	Egypte	Malik et Singh (1980)
Al-Samarrai et al. (2016)	Irak	Anthrone d'après Dreywood
	(El-Bassrah)	(1946)
Abdel-Satar et Mohamed (2017)	Egypte	Malik et Singh (1980)
El-Kholy et <i>al.</i> (2019)	Egypte	Dubois et <i>al.</i> (1956)
	(Alexandrie)	

Tableau 5. Méthodes de dosages des sucres totaux du DPP de deux pays.

Parmi les techniques utilisées, pour le dosage des sucres totaux des cinq études sélectionnées, la méthode de Dubois et *al.* (1956), présente l'avantage d'être facile à pratiquer. Cette dernière, utilisée par Abed (2005) et El-Kholy et *al.* (2019), a pour principe la formation d'un complexe de couleur jaune-orangé, dû au contact entre le complexe phénol-sulfurique avec les sucres totaux. C'est cette coloration qui est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde égale à 490 nm (Abed, 2005).

Concernant le travail d'Al-Samarrai et *al.* (2016), les sucres totaux en présence sont quantifiés par l'utilisation de la méthode colorimétrique dite d'Anthrone (Dreywood, 1946). Il s'agit de mettre en évidence les composés glucidiques en faisant réagir le réactif d'Anthrone dans un milieu à forte concentration en souffre, entraînant la formation d'un complexe de couleur bleu qui absorbe à une longueur d'onde de 627 nm (Clément, 2008).

Deux études égyptiennes, menées par Ibrahim et *al.* (2013) et Abdel-Satar et Mohamed (2017), proposent des estimations du taux de glucides polliniques chez les pieds mâles de quatre régions d'Egypte : El-Maragha, Rasheed, Tahta et Tema, se basant sur les grains de pollen récoltés au cours des années : 2009, 2010 et 2014. La détermination de la teneur en sucres est réalisée d'après le protocole de Malik et Singh (1980).

3.2.6.2. Dosage des sucres réducteurs

Le dosage des sucres réducteurs est basé sur la réduction de la liqueur de Fehling par les sucres réducteurs en présence dans l'échantillon, comme cela fût décrit par Navarre (1974), s'étant lui-même appuyé sur les travaux de Dubois et *al.* (1956).

Seul l'article réalisé par Ibrahim et *al.* (2013), présente des résultats pour ce paramètre. Ce dernier s'intéresse à la teneur en sucres réducteurs, au sein des pollens, issus de six régions d'Egypte : El-Maragha, El-Nahda, Kafer El-Dawar, Rasheed, Tahta et Tema au cours des années 2009 et 2010.

Cette méthode permet d'étalonner par spectrophotométrie, à une longueur d'onde de 488 nm, la liqueur de Fehling, afin de pouvoir déterminer la teneur en sucres réducteurs au sein du pollen de palmier dattier. La présence de sucres réducteurs est mise en évidence par l'apparition d'un précipitât rouge brique. Les résultats sont exprimés en pourcentage de matière sèche (% MS).

3.2.6.3. Dosage de saccharose

La concentration en saccharose, où sucres non réducteurs, présente dans chacun des échantillons de pollen des cultivars provenant des six régions égyptiennes sur lesquelles portent l'étude d'Ibrahim et *al.* (2013), est obtenue en calculant la différence entre la teneur en sucres totaux et la teneur en sucres réducteurs, d'après la formule suivante :

3.2.7. Test de germination du pollen in vitro

Le test de germination *in vitro* a pour but d'évaluer l'aptitude des grains de pollen à germer. Concrètement, il s'agit d'une étude de l'activité, de la formation et de la croissance du tube pollinique (Mesquida et Renard, 1989).

Le pollen, *in vivo*, a besoin du stigmate compatible pour sa germination, c'est pour cela qu'il faut mettre en place un milieu de culture afin de permettre l'obtention d'un grain de pollen germé *in vitro*. Le milieu de culture doit nécessairement contenir : 100 mL d'eau distillée, 15% de Saccharose, 1% d'Agar-Agar, 500 ppm de H₃BO₃, 300 ppm de Ca(NO₃)₂.4H₂O, 200 ppm de (MgSO₄).7H₂O et 100 ppm de KNO₃.

Les milieux de cultures sont alors soumis à l'autoclave durant 20 min à une température de 120°C, puis stockés à l'abri de la lumière comme se fût soigneusement décrit par Furr et Enriquez (1966). Cependant, les articles de Boughediri et Bounaga (1987), Ismaïl (2014) et Mesnoua et *al.*, (2018) discutent du paramétrage du milieu de germination pour les grains de *Phoenix dactylifera* L.

Concernant les grains de pollen, les travaux d'Ibrahim et *al.* (2013), Benamor et *al.* (2014) et Djerouni et *al.* (2015), servant de support à cette synthèse, décrivent que les échantillons polliniques subissent un ensemencement dans les boites de Pétri contenant le milieu de culture antérieurement préparé, pour des raisons de stérilité cette opération est réalisée sous la hotte. Le petit pinceau rempli de pollen permet la répartition de manière homogène à la surface de la

gélose nutritive (ensemencement). Les boites de Pétri contenant le pollen sont alors scellées et mises à l'étuve à 27°C pendant 24 h.

Après avoir stoppé la germination avec une solution de formol à 10% sur la partie intérieure du couvercle de la boite de Pétri, l'observation microscopique est effectuée au grossissement Gx 400. Pour juger de l'aptitude d'un pollen à germer, il suffit alors de calculer le pourcentage de germination se définissant comme étant le rapport du nombre de grains ayant germés sur le nombre de grains total.

Pourcentage de germination = $\frac{\text{Nombre de grains ayant germ\'es}}{\text{Nombre total de grains}}$

Le comptage est réalisé en observant 3 champs microscopiques, à raison de 100 pollens par champ observé. Au cours de ce test, il est important de savoir qu'un grain de pollen est considéré comme étant germé seulement lorsque la longueur de son tube pollinique dépasse celle de son diamètre (Boughediri, 1994).

Chapitre 4 : Résultats et discussion

Ce chapitre s'appuie sur 26 articles scientifiques publiés (voir Annexe 6) se concentrant spécifiquement sur l'étude biochimique des grains de pollen de palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera* L.) à travers divers pays. Ces derniers furent recherchés, collectés, étudiés, interprétés, confrontés et approfondis afin d'enrichir la rubrique « Résultats et discussion ». Le travail est réalisé dans le respect de l'axe d'analyses décrit au cours du chapitre précédant.

4.1. Extraction pollinique

Concernant l'extraction, les différents travaux servant de support à la réalisation de ce document, ne proposent pas de rendement d'extraction. Les macérations, sont mises en œuvre d'après différents protocoles et présentent des divergences quant à leurs modes opératoires : poids du pollen ; type de solvant ; volume du solvant ; durée de macération ; appareillage d'évaporation ; température d'évaporation ; mode de conservation. Ces paramètres penvent affecter la teneur des composés à dosés et leurs degré de solubilité durant l'extraction.

4.2. Etude des polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques très répandues chez les végétaux, comportant plus de 8000 composés différents répartis en 3 groupes majeurs : les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques. Leur utilisation fut démocratisée par *Joseph Lister* en tant qu'antiseptique lors d'intervention chirurgicales entre 1865 et 1885 (Pandey et Rizvi, 2009).

La synthèse portant sur l'étude des polyphénols présents dans le pollen de dattiers est réalisée en s'appuyant sur les travaux de neuf équipes scientifiques, originaires de quatre pays.

4.2.1. Teneur en polyphénols totaux

Voici les résultats des études traitant de la teneur en polyphénols totaux (voir Tab. 6).

Tableau 6. Teneur en polyphénols totaux dans le pollen de palmiers dattiers.

Auteurs	Pays (Région)	Teneur en polyphénols
		totaux (en mg EAG/g MS)
Basuny et <i>al.</i> (2013)	Arabie Saoudite (Al-Hasa)	0.22 ± 0.003
Daoud et al. (2015)	Tunisie (Tozeur)	211.11 ± 10.02
	Tunisie (Kerkennah)	13.42 ± 0.95
Farouk et <i>al.</i> (2015)	Egypte (New Valley)	57.90
Ghanema et <i>al.</i> (2015)	Egypte (Le Caire)	53.40 ± 1.9
Al-Samarrai et al. (2016)	Iraq (Samarra)	1.15 ± 0.05
El-Kholy et <i>al.</i> (2019)	Egypte (Alexandrie)	74.90 ± 0.55
Hifnawy et <i>al.</i> (2016)*	Egypte (El-Orman)	29.98

^{*} L'étude de Hifnawy et *al.* (2016) porte sur l'espèce *Phoenix canariensis* L. et non pas sur *Phoenix dactylifera* L. comme c'est le cas pour notre étude.

Dans le tableau, les teneurs en composés phénoliques issus d'extractions éthanoïques des pollens de différents cultivars sont estimées selon la méthode de Folin-Ciocalteu, qui est l'une des plus anciennes méthodes conçues pour la détermination de la teneur en polyphénols (Abdel-Hameed, 2009). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Généralement, la quantification des polyphénols totaux au sein des grains de pollen montre une grande variabilité selon le cultivar, la variété ou encore la région (Daoud et *al.*, 2015). En effet, la concentration la plus élevée est d'une valeur de 211.11 ± 10.02 mg EAG/g MS, pour les échantillons issus de Tozeur en Tunisie au compte de Daoud et *al.* (2015). Quant à la plus faible valeur, elle est attribuée aux travaux du saoudien Basuny et *al.* (2013), avec 0.22 ± 0.003 mg EAG/g MS. L'intervalle obtenu est en accord avec les valeurs avancées par l'étude de l'irakien Abed (2005), portant sur les mâles : « El-Ghanami El-Ahmar » ; « El-Ghanami El-Akhdar » ; « Khakry El-Adi ».

L'étude tunisienne de Daoud et al. (2015) illustre significativement la différence pouvant exister entre les extraits polliniques de deux régions d'un même pays. Les échantillons issus de Tozeur, avec 211.11 ± 10.02 mg EAG/g MS comportent une teneur en polyphénols beaucoup plus importante que ceux originaires de Kerkennah avec 13.42 ± 0.95 mg EAG/g MS.

Concernant les pollens égyptiens, les différentes concentrations estimées par les travaux de Ghanema et al. (2015); Farouk et al. (2015) et El-Kholy et al. (2019) sont respectivement de 53.40 ± 1.9 ; 57.90 et 74.90 ± 0.55 mg EAG/g MS. Pour ces derniers, l'écart quant à la teneur en composés phénoliques est moins prononcé que pour les estimations tunisiennes. Ces différences peuvent être dues au taux d'éthanol utilisé pour l'extraction des échantillons polliniques ; 80% au Caire pour Ghanema et al. (2015) et 95% à Alexandrie pour El-Kholy et al. (2019).

Une étude égyptienne portant sur une autre espèce du genre *Phoenix*, s'intéresse à la teneur en polyphénols des feuilles et du pollen. La concentration en contenu phénolique de *Phoenix canariensis* L. est nettement plus faible que de celle du *Phoenix dactylifera* L. provenant du même pays. Ces travaux révèlent aussi que les extraits des feuilles sont plus riches en composés phénoliques que les pollens avec respectivement 69.9 et 29.98 mg EAG/g MS (Hifnawy et *al.*, 2016). D'autre part, les travaux de Bengag (2009), abordant le sujet des feuilles de dattiers du sud-ouest algérien, ont quantifié la teneur en polyphénols comme allant de 47.89 à 170.79 mg EAG/g de poudre lyophilisée.

Le travail mené par l'équipe tunisienne de Daoud et *al.* (2015) réalise l'expérience de tester l'extraction d'une même quantité de pollen (200 g) issus de deux palmeraies distinctes dans six solvants différents afin d'évaluer la teneur en polyphénols de ce dernier (voir Tab. 7).

Tableau 7. Teneur en polyphénols totaux extrait par 6 solvants différents (Daoud et *al.*, 2015).

Solvants d'extraction	Teneur DPP Tozeur	Teneur DPP Kerkennah
	(mg EAG/g MS)	(mg EAG/g MS)
Hexane	5.40 ± 0.87	48.29 ± 2.81
Chloroforme	133.14 ± 6.53	53.53 ± 5.30
Acétate d'éthyle	100.36 ± 4.69	31.93 ± 1.62
Acétone	213.36 ± 5.72	197.62 ± 7.41
Ethanol	211.11 ± 10.02	13.42 ± 0.95
Solvant Aqueux	237.74 ± 9.58	180.04 ± 6.72

Le solvant d'extraction le plus rentable est le solvant aqueux pour la région de Tozeur avec 237.74 ± 9.58 mg EAG/g MS et que le moins rentable est l'hexane pour la même région tunisienne avec seulement 5.40 ± 0.87 mg EAG/g MS. L'acétone arrive en deuxième position avec 213.36 ± 5.72 et 197.62 ± 7.41 mg EAG/g MS, respectivement pour les zones de Tozeur et Kerkennah (une quasi-égalité avec le solvant aqueux). Les bons rendements de ce solvant organique peuvent être attribués à sa bonne solubilité, sa faible toxicité, sa polarité moyenne et sa capacité d'extraction élevée comme l'affirment Horiuchi et *al.* (2007). Pour enrichir ces informations, Ramadan et *al.* (2014) assurent que l'éthanol est un meilleur solvant d'extraction que le méthanol.

D'un point de vue technique, la faible spécificité du réactif de F-C, est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique, étant extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes hydroxyles, non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains métabolites primaires comme les sucres et les protéines d'après les propos de Vuorela (2005) et Gomez-Caravaca et *al.* (2006). En outre, Djeridane et *al.* (2006) rapportent que le solvant d'extraction emporte les substances non phénoliques comme les sucres et les colorants pouvant donc interférer durant l'évaluation du contenu phénolique. Le dosage par le réactif en question, donne en l'occurrence un taux en composés phénoliques apparent élevé, Tawaha et *al.* (2007).

La variabilité dans les résultats trouvés lors de ces recherches peut être due au fait que la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, pratiques culturelles, état de maturité lors de la récolte et conditions de stockage) comme le décrivent par Podsędek (2007) et Falleh et *al.* (2008). Ce dernier approfondit le sujet en affirmant que la distribution des métabolites secondaires peut

changer pendant le développement de la plante, ceci pouvant être lié aux conditions climatiques arides tel que la température élevée, l'exposition solaire, la sécheresse et la salinité, qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols.

L'essentiel de ces résultats démontre clairement l'influence de la diversité écologique sur la richesse du pollen en composés phénoliques, c'est-à-dire la luminosité, les précipitations, la topographie, la saison de récolte et le type de sol de la région de culture des pieds mâles d'après Harris (1977). Néanmoins, la technicité protocolaire influence aussi la richesse de la solution pollinique de par la faible spécificité du réactif, la méthode d'extraction utilisée, la quantité de pollen à extraire ainsi que le degré de dissociation du solvant. Dès lors, il est intéressant de poursuivre par l'identification des composés phénoliques.

4.2.2. Identification des polyphénols

L'identification et le dosage des composés phénoliques sont rapportés comme suit :

Tableau 8. Identification et teneur en polyphénols dans le pollen de palmiers dattiers

Auteurs	Abou-Zeid et al.	El-Kholy et <i>al</i> .	Kadry et al. (2019)
	(2019)	(2019)	
Région	Ryad	Alexandrie	Le Caire
Pays	Arabie Saoudite	Egypte	Egypte
Polyphénols			
Acide gallique	0.003	0.019	-
Acide chlorogénique	0.058	-	81.13
Acide caféique	0.075	0.002	0.92
Acide tannique	0.006	-	-
Acide cinnamique	-	0.0005	1.93
Acide coumarique	-	0.0006	1.83
Acide ferrulique	-	0.0006	2.97
Acide syringique	-	-	0.28
Acide ellagique	-	-	0.43
Caféine	-	-	6.56
Vanilline	-	-	1.13
Gallate de propyle	-	0.0005	0.55

Ces données (voir Tab. 8) sont les résultats d'extraits éthanoïques avec lesquels une identification est réalisée grâce à la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Les résultats du dosage des composés phénoliques présents dans les échantillons polliniques sont très contrastés. En effet, la valeur minimale est enregistrée pour l'acide coumarique et le gallate de propyle avec 0.0005 mg EAG/g MS d'après l'étude égyptienne d'El-Kholy et *al.* (2019), alors que la maximale est détenue par l'acide chlorogénique avec une concentration de 81.13 mg EAG/g MS comme l'avancent Kadry et *al.* (2019). Pour l'information, l'acide chlorogénique est réputé de par sa forte activité antioxidante et anti inflammatoire, qui sont, par ailleurs, des propriétés communes aux composés phénoliques mais en proportions variables.

Concernant l'identification, les travaux de Kadry et *al.* (2019) dans la région du Caire, sont ceux présentant le plus de composés phénoliques reconnus : 10 ; suivi d'El-Kholy et *al.* (2019) avec 6 composés pour la zone d'Alexandrie et enfin d'Abou-Zeid et *al.* (2019) identifiant 4 composés au sein des pollens des cultivars de Ryad en Arabie Saoudite (voir Tab. 8). L'acide caféique est le seul composé détecté par les 3 études, ce dernier, outre le fait qu'il soit considéré comme un polyphénol essentiel, est très présent dans le café, le thé noir et les pollens de différentes espèces comme l'indiquent Sera Bonvehi et *al.* (2001). Il est reconnu comme chimio-préventif, inhibiteur des dommages d'ADN, activateur du système immunitaire et régulateur des gênes (Granado-Serrano et *al.*, 2007).

La famille des composés phénoliques, est subdivisée en 3 grands groupes : les acides phénoliques, les tanins et les flavonoïdes. Ces derniers formant le groupe des composés phytochimiques le plus important chez les plantes comme l'affirment Beta et *al.* (2005). La présente synthèse poursuit donc en s'intéressant aux flavonoïdes étant reconnus comme les principaux composés phénoliques (Grzesik et *al.*, 2018).

4.3. Etude des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont étés découverts en 1937 par *Albert Szent-Györgyi* qui a, grâce à eux, obtenu le prix Nobel de médecine l'année suivante. Ils font parties de la classe des composés phénoliques (polyphénols) comme le défini Bruneton (2009).

La synthèse sur le dosage et l'identification des flavonoïdes en présences dans le pollen de palmiers dattiers est réalisée en s'appuyant sur neuf articles provenant de cinq pays différents.

4.3.1. Teneur en flavonoïdes totaux

Les travaux traitant de la teneur en flavonoïdes totaux (voir Tab. 9) sont rédigés comme suit :

Auteurs	Pays (Région)	Teneur en Flavonoïdes totaux (en mg EQ/g MS)
Basuny et <i>al.</i> (2013)	Arabie Saoudite (Al-Hasa)	0.0613
Daoud et al. (2015)	Tunisie (Tozeur)	22.25 ± 2.86
	Tunisie (Kerkennah)	4.29 ± 0.31
Hifnawy et <i>al.</i> (2016)*	Egypte (El-Orman)	17.20

Tableau 9. Teneur en flavonoïdes totaux dans le pollen de palmiers dattiers.

Les données de ce tableau sont les résultats d'extraits éthanoïques avec lesquels une gamme d'étalonnage est réalisée grâce au spectrophotomètre UV-Vis. Les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalents de quercétine (ou rutine) par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS ou mg ER/g MS).

Une grande disparité est observée entre les différentes concentrations en flavonoïdes totaux des pollens de palmiers dattiers. En effet, la plus faible concentration est enregistrée chez les palmiers mâles d'Al-Hasa (Arabie Saoudite) avec 0.0613 mg EQ/g MS (Basuny et al., 2013) et la plus forte teneur est attribuée à Tozeur (Tunisie) avec $22.25 \pm 2.86 \text{ mg EQ/g MS}$ comme le rapportent Daoud et al. (2015).

La variabilité de la teneur en flavonoïdes totaux est aussi visible entre des cultivars issus du même pays mais de 2 palmeraies distinctes comme le montre l'étude tunisienne de Daoud et *al.* (2015), avec 4.29 ± 0.31 mg EQ/g MS pour le pollen des « Dokkars » de Kerkennah étant inférieur à celui provenant de Tozeur avec 22.25 ± 2.86 mg EQ/g MS.

Concernant l'étude égyptienne de Hifnawy et *al.* (2016), portant sur *Phœnix canariensis* L., la concentration moyenne en flavonoïdes est de 17,20 mg ER/g MS. Ce résultat est comparable à ceux obtenus pour l'espèce *Phoenix dactylifera* L., malgré les différences existantes : espèces et étalons (rutine pour la première espèce et quercétine pour celle faisant l'objet de la présente étude).

La forte différence observée quant à la teneur en flavonoïdes totaux dans le pollen des palmiers dattiers mâles est, entre autre, due à la pollution de l'air qui provoque l'augmentation de la concentration en flavonoïdes (Rezanejad, 2012), ainsi qu'aux facteurs biologiques, agronomiques, génotypiques et environnementaux (état de maturation de la plante, salinité des sols, température moyenne de la région, stress hydrique, intensité lumineuse) comme l'avancent Daoud et *al.* (2015).

^{*} L'étude de Hifnawy et *al.* (2016) porte sur l'espèce *Phoenix canariensis* L. et non pas sur *Phoenix dactylifera* L. comme c'est le cas pour notre étude. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg ER/g MS.

La production de flavonoïde par la plante se fait, entre outre, comme moyen de défense contre les invasions d'insectes (Grayer et Harborne, 1994), ce qui peut traduire qu'une concentration élevée en flavonoïdes coïncide avec une forte population d'insectes dans la palmeraie. Il est aussi important de rappeler l'existence de différences dues aux matériels utilisés dans les laboratoires de recherche lors de l'extraction (état et marque du spectrophotomètre).

Une étude iraquienne, proposée par Al-Samarrai et *al.* (2016), se base sur le criblage phytochimique, afin de mettre en avant les différents métabolites (primaires et secondaires) présents dans le pollen de *Phoenix dactylifera* L. et comprend cinq tests : Shinoda ; hydrochlorate de zinc ; chlorure alcaline ; chlorure de fer ; acétate de plomb. Cette méthode a permis de mettre en évidence la prééminence du pollen extrait par l'éthanol, suivie de l'eau distillée chaude et de l'acétate d'éthyle, quant au chloroforme et à l'ester de pétrole, ils n'ont donné aucun rendement d'extraction. L'éthanol est donc préférable car il a l'avantage d'être non polluant, moins cher et moins toxique que d'autres solvants comme le méthanol, d'après Garcia-Salas et *al.* (2010).

Néanmoins, le travail mené par l'équipe tunisienne de Daoud et *al.* (2015) réalise l'expérience de tester l'extraction d'une même quantité de pollen (10g) issus de deux palmeraies distinctes dans six solvants différents (voir Tab. 10).

Tableau 10. Teneur en flavonoïdes totaux extrait par 6 solvants différents (Daoud et *al.*, 2015)

Solvants d'extraction	Teneur DPP Tozeur	Teneur DPP Kerkennah
	(mg EQ/g MS)	(mg EQ/g MS)
Hexane	4.37 ± 0.96	8.85 ± 0.83
Chloroforme	7.69 ± 1.13	3.79 ± 0.26
Acétate d'éthyle	69.72 ± 3.76	9.48 ± 1.51
Acétone	75.10 ± 4.37	30.85 ± 1.98
Ethanol	22.25 ± 2.86	4.29 ± 0.31
Solvant Aqueux	73.59 ± 5.62	27.05 ± 1.84

Le tableau montre que le solvant ayant les meilleurs résultats est l'acétone avec une concentration de 75.10 ± 4.37 mg EQ/g MS pour le pollen de Tozeur. Quant à la plus faible valeur, c'est celle du chloroforme avec une teneur de seulement 3.79 ± 0.26 mg EQ/g MS de flavonoïdes totaux au sein du pollen des « Dokkars » de la région de Kerkennah. Cette dernière favorise, à l'inverse de l'étude iraquienne (Al-Samarrai et al., 2016), l'utilisation de l'acétone comme solvant d'extraction de prédilection, plaçant en deuxième position le solvant aqueux

(eau distillée), suivi de l'acétate d'éthyle. L'éthanol n'arrive qu'en quatrième position et il est donc considéré comme peu avantageux.

Les résultats des deux études s'opposent sur le choix du meilleur solvant à utiliser. La concentration en flavonoïdes dans les extraits de la plante, dépends donc de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits (Marco, 1968).

Après avoir dosé les flavonoïdes présents dans le pollen de palmiers dattiers, la présente étude poursuit par l'identification des différents flavonoïdes du pollen de palmiers.

4.3.2. Identification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments colorés permettant la coloration des fleurs et des fruits, cette richesse est affichée à travers les différents types qui composent cette classe végétale. En effet, c'est plus de 4000 flavonoïdes différents qui ont été découverts. Les flavonoïdes sont subdivisés en 7 familles se différenciant sur la base de caractères structuraux, plus précisément par la conformation centrale de leur double cycle benzénique (Benguerba, 2008).

En outre, le dosage différentiel entre les flavones et les flavonols, réalisé par Bentrad et al. (2017), par spectrophotométrie à 420 nm montre la dominance des résidus d'isoflavones glycolysés avec 9.88 ± 1 mg EQ/g MS et des anthocyanes avec 9.33 ± 0.3 mg EQ/g MS par rapport aux flavones avec seulement 2 ± 0.19 mg EQ/g MS. Ces résultats font penser à l'existence d'une hiérarchie quant à la teneur en différentes familles de flavonoïdes dans le pollen de *Phoenix dactylifera* L. des « Dokkars » algériens étudiés (voir Tab. 11).

Tableau 11. Teneur en familles flavonoïques par dosage différentiel (Bentrad et al., 2017).

Pays (Région)	Familles Flavonoïques	Teneur
	identifiées	(en mg EQ/g MS)
Algérie (Biskra)	Flavones	2 ± 0.19
	Anthocyane	9.33 ± 0.3
	C-glycosylée isoflavone	9.88 ± 1

Dès lors, il est intéressant d'approfondir par une identification plus minutieuse des composés flavonoïques présents dans le pollen de dattiers. Le tableau ci-dessous, présente les différents métabolites, faisant partie de la sous-classe des flavonoïdes, identifiés à travers des pollens issus de 6 palmeraies (voir Tab. 12).

Tableau 12. Identification et teneur en flavonoïdes dans le pollen de palmiers dattiers.

Auteurs	Pays (Région)	Flavonoïdes identifiés	Teneur en flavonoïdes (en mg EQ/g MS)
Abbas et Ateya	Egypte	Isorhamnetine-5-O-glycosyle	(**************************************
(2011)	(Al-Ismaïlia)	Apigénine	
		Lutéoline-7-O-β-D-glucoside	_*
		Naringénine	
		Rutine	
Al-Samarrai et <i>al</i> .	Irak	Isorhamnetine	0.122
(2017)	(Samarra)	Naringénine	0.064
		Apigénine	0.109
		Apigénine-7-O-β-glycopyranoside	0.048
		Lutéoline	0.029
		Lutéoline-7-O-β-D-glucoside	0.018
Abou-Zeid et al.	Arabie	Catéchine	0.036
(2019)	Saoudite	Rutine	0.003
	(Ryad)	Quercétine	0.006
Kadry et <i>al</i> .	Egypte	Rutine	0.25
(2019)	(Le Caire)	4'7-dihydroxy-isoflavone	2.29
		Quercétine	19.2
Otify et <i>al.</i> (2019)	Egypte (El-Faiyum)	Isorhamnetine	4.3 ± 0.1

^{*} L'étude égyptienne d'Abbas et Ateya (2011) n'est pas appuyée par des valeurs numériques mais seulement par une identification des différents composants en présence dans le pollen de palmiers dattiers.

Les données de ce tableau sont les résultats d'extraits éthanoïques avec lesquels une identification est réalisée grâce à la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

Tout d'abord, la teneur la plus élevée est celle de la quercétine avec 19.20 mg EQ/g MS d'après Kadry et *al.* (2019) ; la plus faible valeur, quant à elle, est attribuée à la rutine avec 0.003 mg EQ/g MS pour l'étude d'Abou-Zeid et *al.* (2019). Les résultats avancés présentent donc une très grande disparité entre les concentrations en composés flavonoïques identifiés.

Une observation plus minutieuse met en évidence la variabilité existante entre les composés d'un même pollen, comme le montrent Abou-Zeid et *al.* (2019) avec l'identification de 3 flavonoïdes différents : la rutine ; la quercétine et la catéchine qui possèdent respectivement les teneurs de 0.003 ; 0.006 et 0.036 mg EQ/g MS. Il y a donc une différence conséquente quant à la part de chacun des composés dans l'échantillon de pollen de dattier. L'étude menée par Kadry et *al.* (2019) va dans le même sens en démontrant l'existence d'un

partage inégal avec 0.25 ; 2.29 ; 19.2 mg EQ/g MS, respectivement pour la rutine ; la daidzéine (4'7-dihydroxy-isoflavone) et la quercétine.

Néanmoins, le travail d'Al-Samarrai et *al.* (2017) vient proposer une alternative à toutes ces disparités en donnant des résultats plus proches les uns des autres avec l'identification de 6 flavonoïdes : la lutéoline-7-O-β-D-glucoside ; la lutéoline ; l'apigénine-7-O-β-glycopyranoside ; la naringénine ; l'apigénine et l'isorhamnetine ayant respectivement pour concentrations en composés flavonoïques : 0.018 ; 0.029 ; 0.048 ; 0.064 ; 0.109 ; 0.122 mg EQ/g MS. Dans cette dernière, les valeurs extrêmes sont éloignées d'un coefficient multiplicateur inférieur à 7, contrairement aux concentrations obtenues par Kadry et *al.* (2019) avec un coefficient multiplicateur de 77.

Lors de l'identification, par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), des différents composés flavonoïques, les chercheurs utilisent des marqueurs de flavonoïdes afin de déterminer, par comparaison lors de l'élution, chacun des composants présents dans l'échantillon. Dès lors, il est clair que la richesse de l'identification dépend de deux facteurs distincts ; l'objectif de recherche (un flavonoïde en particulier ou l'intégralité des composés flavonoïques en présences) et de la disponibilité en marqueurs.

Concrètement, les flavonoïdes les plus recherchés sont ceux possédant une valeur pharmacologique connue du monde médical, comme c'est le cas pour l'étude d'Otify et *al*. (2019) qui, au niveau de l'identification, ne s'est intéressée qu'à la quantité en isorhamnetine du pollen (4.3 mg EQ/g MS). Ceci dans l'objectif d'appuyer les bienfaits de ce dernier en avançant ses vertus anti-inflammatoires, anti-obésité, anti-oxydantes et anti-tumorales. Quant à Kadry et *al*. (2019), l'identification a permis la mise en avant de la quercétine (19.2 mg EQ/g MS) par rapport aux autres composants et, de la même manière, d'affirmer les vertus du pollen de palmier dattier pour la protection du foie, la limitation de l'endommagement de l'ADN, la diminution du taux de TNFα et donc le risque de cancer (Herzog, et *al*., 2012).

L'identification des flavonoïdes constituants le pollen de palmiers dattiers montre une grande diversité, autant sur le plan qualitatif (différents types de flavonoïdes), que quantitatif (concentration de ces flavonoïdes). Après s'être intéressé aux métabolites secondaires du pollen, l'étude poursuit sur les métabolites primaires entrant dans sa composition.

4.4. Etude des protéines totales

C'est en 1838, que le chimiste néerlandais *Gerrit Johannes Mulder*, découvre les protéines, lors d'une étude sur la composition élémentaire de substances azotées d'origine animale comme la fibrine ou l'albumine (Vignais, 2001).

Par la suite, les travaux du chimiste allemand *Emil Fischer*, démontre que les protéines sont, en réalité, l'assemblage de briques élémentaires ; les 20 acides aminés et, grâce à ses recherches, obtient le prix Nobel en 1902 (Brion et Lafont, 2007).

La synthèse sur le dosage et l'identification des protéines polliniques des cultivars mâles est réalisée en s'appuyant sur neuf articles provenant de trois pays différents.

Les différents travaux portant sur la teneur en protéines totales des grains de pollen de palmiers mâles (voir Tab. 13 et 14) sont relatés comme suit :

Tableau 13. Teneur en protéines totales de différents pollens de cultivars irakiens.

Auteurs	Région	Teneur en protéines totales (en g/100g MS)
Jassem et al. (2000)	El-Bassrah	« El-Ghanami El-Akhdar »*
		42.46
		« El-Ghanami El-Ahmar »*
		44.27
		« Khakry El-Adi »*
		39.76
		« Khakry El-Wardi »*
		36.51
		« Khakry El-Smissi »*
		39.19
Abed (2005)	El-Bassrah	« El-Ghanami El-Akhdar »*
		50.34
		« El-Ghanami El-Ahmar »*
		45.37
		« Khakry El-Adi »*
		56.40
Abed et <i>al.</i> (2011)	El-Bassrah	« Khakry El-Adi »*
		44.20
		« Dakel »*
		40.20
Al-Samarrai et al. (2016)	Tikrit	19.45

^{*} Noms des palmiers dattiers mâles, ce système de nomination est régional (Irak) et non applicable aux autres pays.

Tableau 14. Teneur en protéines totales de différents pollens de cultivars égyptiens.

Auteurs	Région	Teneur en protéines totales
		(en g/100g MS)
Hassan (2011)	Giza	31.11
Ibrahim et <i>al.</i> (2013)	El-Nahda	23.68
	Rasheed	31.73
	Kafer El-Dawar	19.75
	El-Maragha	17.37
	Tema	21.73
	Tahta	19.86
Abdel-Satar et Mohamed	Rasheed	31.21
(2017)	Edko	25.75
	Hosh-Isa	24.22
	Sinnuris	27.20
	Tammiyyah	23.79
	Ibshaway	20.89
	El-Maragha	23.81
	Tema	22.85
	Tahta	18.44
Hifnawy et <i>al.</i> (2018)*	El-Orman	17.10

^{*} L'étude de Hifnawy et *al.* (2018) porte sur l'espèce *Phoenix canariensis* L. et non pas sur *Phoenix dactylifera* L. comme c'est le cas pour notre synthèse.

Les résultats présentés dans ce tableau sont issus d'une extraction protéique par hydrolyse basique ; et la détermination de la teneur en protéines totales dans les différents échantillons est réalisée d'après la méthode dite Kjedahl, et rapportée par A.O.A.C. (1995). La concentration en protéines totales est exprimée en grammes par 100 grammes de matière sèche (g/100 g MS).

Concernant la proportion en protéines totales, un large intervalle est observé au sein des différents échantillons polliniques. En effet, la valeur maximale est obtenue par les mâles « khakry El-Adi », issus de la région d'El-Bassrah en Irak, avec 56.40 g/100 g MS d'après Abed (2005). La valeur minimale, quant à elle, est détenue par les cultivars mâles d'El-Maragha en Egypte, avec 17.37 g/100 g MS d'après les travaux de Ibrahim et *al.* (2013).

La variabilité est d'autant plus visible entre les cultivars issus de différentes régions d'un même pays, comme l'illustre l'étude égyptienne d'Abdel-Satar et Mohamed (2017), le pollen de Tahta contient en moyenne 18.44 g/100 g MS de protéines contre 31.21g/100 g MS pour le pollen originaire de Rasheed. La différence est donc significative quant à la teneur protéique des pollens égyptiens. Cependant, il est important de relativiser, car les valeurs obtenues pour Rasheed sont semblables à celles obtenue pour les mâles de Giza avec 31.11 g/100 g MS d'après Hassan (2011).

L'intervalle des concentrations protéiques, existe mais il est moins prononcé concernant les échantillons de pollen provenant d'une même région mais de types de cultivars phénotypiquement considérés comme différents. Le travail de l'équipe iraquienne de Jassem et al. (2000), portant sur les palmeraies d'El-Bassrah, appui ces propos ; « El-Ghanami El-Ahmar » détient la teneur la plus élevée avec 44.27g/100 g MS. La plus faible étant détenue par « Khakry El-Wardi » avec 36.51g/100 g MS. D'un point de vue régional, ces résultats sont renforcés par ceux d'Abed (2005), avec 45.37g/100 g MS et 56.40g/100 g MS respectivement pour « El-Ghanami El-Ahmar » et « Khakry El-Adi ».

Les pollens originaires d'une même région connaissent, pour certains, une quasi égalité quant à la teneur en protéine, comme c'est le cas pour la région égyptienne de Rasheed, avec 31.73g/100 g MS pour l'étude d'Ibrahim et *al.* (2013) et 31.21g/100 g MS pour celle d'Abdel-Satar et Mohamed (2017). Néanmoins, pour les mêmes auteurs dans la zone d'El-Maragha, les résultats obtenus sont respectivement de 17.37g/100 g MS et 23.81g/100 g MS. Une variation assez importante peut donc exister pour une même région à différentes périodes.

A propos de l'étude égyptienne de Hifnawy et *al.* (2018), portant sur une palmeraie d'El-Orman où l'espèce *Phoenix canariensis* L. est cultivée, le taux de protéine de l'échantillon pollinique est faible avec 17.10g/100 g MS soit légèrement inférieur à l'intervalle observé pour les mâles de *Phoenix dactylifera* L. (de 17.37 à 56.40g/100 g MS). D'un point de vue interspécifique, une différence est observée quant à la concentration en protéine totale.

Les moyennes obtenues au cours des différentes études faisant l'objet de cette synthèse sont, de manière générale, supérieures à la norme fixée par Bacha et *al.* (1997), avec un intervalle allant de 15,8 à 18.0g/100 g MS pour des pollens iraquiens. Par ailleurs, Human et Nicolson (2006), affirment que la moyenne est très variable : s'étendant de 12 à 61g/100 g MS, ces derniers sont donc en accord avec ceux des différentes études utilisées pour la réalisation de ce document.

Les variations de la composition chimique du pollen dépendent de l'environnement, de la maturation, de l'âge ainsi que de la vigueur de la plante d'après Solberg et Remedios (1980). Il en est de même selon Stanley (1971), d'après qui, la variance génotypique et les facteurs environnementaux ont fortement influencé sur la composition chimique des grains de pollen pendant la maturation et après la déhiscence. Ces propos sont corroborés par Ibrahim et *al.* (2013) qui affirment que de faibles variations indiquent que les pollens sont issus de palmiers cultivés de manières semblables et que l'environnement, la nutrition et le lieu sont les principaux facteurs pouvant faire varier la teneur en protéine du pollen de palmier dattier.

Certaines recherches à caractère biochimique, menées sur des grains de pollen de *Phoenix dactylifera* L., montrent que la part des protéines dépend de la saison de récolte de la spathe : tardive, l'essentiel des nutriments est utilisé et donc la teneur en protéine est plus faible, et en l'occurrence ; précoce, les nutriments polliniques sont stockés et donc une plus forte concentration en résidus protéiques est obtenue. (Tamime et al., 1991 et Jassem et *al.*, 2000).

Le solvant d'extraction joue un rôle important dans l'obtention d'un bon rendement protéique, comme le montre les résultats du criblage phytochimique réalisé par Al- Samarrai et *al.* (2016). Il est clair que l'eau distillée chaude est le solvant permettant l'extraction la plus performante au test de Ninhydrine, suivi en deuxième position par l'éthanol. Les autres solvants : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et l'éther de pétrole ont réagi négativement aux trois tests proposés par l'étude (voir Tab. 15).

Tableau 15. Tests de dosage protéique du pollen sur différents solvants d'extraction (Al-Samarrai et *al.*, 2016)

Tests	Chloroforme	Ethanol	Acétate d'éthyle	Eau distillée chaude	Ether de pétrole
Ninhydrine	-	+	-	++	-
Xanthoprotéique	-	-	-	-	-
Biuret	-	Trace	-	+	-

^{* (-) :} absence ; (+) : présence ; (Trace) : présence en faible quantité.

D'après Shaheen et El-Meleigi (1991), qui réalisent une étude de comparaison par électrophorèse d'identification des protéines présentent dans le pollen de 16 cultivars mâles d'Arabie Saoudite, le taux de similitudes diffère fortement avec 75% de ressemblances entre « Maktumy » et « Khudari » pour le plus élevé et 0% de similitudes entre « Khash » et « Sakaie » pour le plus faible enregistré. Dès lors, les auteurs avancent que plus le taux de similitudes est élevé, plus les cultivars présentent des patrimoines génétiques proches les uns des autres. Ceci est confirmé par Jassem et *al.* (2000), qui affirment que les différences entre les pollens de dattiers sont dus aux facteurs génétiques propres à chaque plante.

Après avoir étudié le dosage des résidus protéiques en présence dans les différents échantillons de pollen faisant l'objet de cette synthèse, il est logique de poursuivre par le dosage d'autres métabolites primaires ; les sucres.

4.5. Etude des sucres

Depuis l'antiquité, le sucre est connu pour son pouvoir sucrant lui donnant l'avantage d'être apprécié de tous et d'être indispensable à la santé de l'Homme en lui apportant l'énergie dont il a besoin.

Anciennement dénommés hydrates de carbone, saccharides ou encore sucres, les glucides représentent l'un des principaux composants de la matière vivante. Ils sont plus ou moins directement originaires du dioxyde de carbone et de l'eau par le biais de la photosynthèse et sont composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène (Marouf et Tremblin, 2013).

La réalisation de la présente rubrique traitant du dosage des sucres dans le pollen de palmiers dattiers se base sur les travaux effectués par cinq équipes scientifiques dans deux états différents. Les méthodes utilisées par les auteurs ne sont pas les mêmes.

4.5.1. Teneur en sucres totaux

Les teneurs en sucres totaux des échantillons polliniques provenant des différentes études traitant de ce sujet (voir Tab.16 et 17) sont répertoriées comme suit :

Auteurs	Pays (Région)	Méthode	Teneur en sucres totaux
			(en % MS)
Abed (2005)	Irak (El-Bassrah)	Dubois et <i>al</i> .	« El-Ghanami El-Ahmar »*
		(1956)	20.60
			« El-Ghanami El-Akhdar »*
			12.30
			« Khakry El-Adi »*
			8.10
Al-Samarrai et	Irak (El-Bassrah)	Anthrone d'après	« El-Ghanami El-Ahmar »*
al. (2016)		Dreywood (1946)	26.25
El-Kholy et al.	Egypte	Dubois et al.	6.50 ± 0.69

Tableau 16. Teneur en sucres totaux du pollen de palmiers dattiers

(1956)

(Alexandrie)

Tableau 17. Teneur en sucres totaux du pollen de palmiers dattiers dans 4 régions d'Egypte.

Région (Gouvernât)	Méthode	Teneur en sucres totaux par années de récolte (en % MS)			
		2009*	2010*	2014**	
Rasheed (El-Behira)		4.85	7.85	6.52	
El-Maragha (Sohage)	Malik et Singh	5.05	5.25	4.46	
Tema (Sohage)	(1980)	4.46	4.45	5.95	
Tahta (Sohage)		6.20	5.10	4.90	

^{*} Résultats issus de l'étude d'Ibrahim et al. (2013) ; ** Résultats de l'étude d'Abdel-Satar et Mohamed (2017).

^{*} Noms des palmiers dattiers mâles, ce système de nomination est régional (Irak) et non applicable aux autres pays.

Les valeurs présentées dans les deux tableaux ci-dessus, sont les résultats du dosage glucidique, réalisé d'après trois méthodes. Les résultats sont exprimés en pourcentage de matière sèche (% MS).

Le taux de glucides en présences, pour le pollen de *Phoenix dactylifera* L., atteint sa valeur maximale pour l'étude irakienne d'Al-Samarrai et *al.* (2016) avec 26.25% MS. Quant à sa valeur minimale, elle est observée pour les travaux des égyptiens d'Ibrahim et *al.* (2013), dans la région de Tema avec 4.45% MS. Dès lors, il est clair que les grains de pollen des cultivars irakiens sont plus riches en sucres totaux que ceux d'Egypte. En effet, les palmiers mâles d'Irak proposent un intervalle allant de 8.10 à 26.25% MS, quant à leur teneur glucidique, contre une marge allant de 4.45 à 7.85% MS pour les cultivars égyptiens.

Les pollinisateurs irakiens présentent, de manière globale, une différence hautement significative concernant les teneurs en sucres détectés avec 8.10 ; 12.30 et 20.60% MS pour « Khakry El-Adi » ; « El-Ghanami El-Akhdar » et « El-Ghanami El-Ahmar » respectivement d'après Abed (2005). Cette affirmation est appuyée par les résultats d'une étude réalisée plus d'une décennie plus tard dans la même région, en utilisant une méthode de dosage différente, obtenant 26.25% MS pour le cultivar « El-Ghanami El-Ahmar » (Al-Samarrai et *al.*, 2016). Ce dernier étant plus riche en glucides que les autres.

Les pollens égyptiens proposent une faible disparité concernant la teneur en composés glucidiques. D'un point de vue régional, le taux le plus élevé pour la récolte de l'année 2009 est enregistrée à Tahta avec une valeur de 6.20% MS. Concernant les années 2010 et 2014, c'est la palmeraie de Rasheed qui inscrit les valeurs les plus importantes, avec respectivement 7.85 et 6.52% MS (Ibrahim et al., 2013; Abdel-Sattar et Mohamed, 2017). De plus, il est indiqué que le pollen originaire du gouvernât d'Alexandrie (voir Tab. 16) contient en moyenne $6.50 \pm 0.69\%$ MS de sucres totaux (El-Kholy et al., 2019), soit proche des estimations effectuées dans les gouvernâts de Sohage et d'El-Behira.

Ces résultats montrent que la teneur en sucres totaux varie au sein de la variété de dattier étudiée, d'une région à l'autre, d'une année à l'autre et d'un mâle à l'autre, sans oublier de stipuler l'influence de la période de récolte, ainsi que la méthode colorimétrique utilisée pour le dosage. Par ailleurs, Stanley (1971) affirme que les différences génotypiques, ainsi que les facteurs environnementaux influencent fortement sur la composition chimique des grains de pollen.

De plus, Pressman et *al.* (2002) signalent que durant le développement et la maturation du pollen, les températures élevées ont tendance à réduire la teneur en glucides et le taux de viabilité des pollens. En outre, tous les facteurs qui influencent la photosynthèse de la plante entraînent une diminution du stockage des composés glucidiques dans le pollen mature comme l'indiquent Al-Tahir et *al.* (1982).

A ce point d'avancement de l'étude, il est judicieux de poursuivre en approfondissant sur le taux de sucres réducteurs et non réducteurs en présences dans le pollen de dattiers.

4.5.2. Teneur en sucres réducteurs et non réducteurs.

Les sucres réducteurs furent mis en évidence par un chimiste allemand du nom d'*Hermann von Fehling* en 1855. Ces derniers sont des sucres simples (glucose, fructose, maltose) donneurs d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction et ils possèdent une fonction aldéhydique. De manière plus simple, cette appellation désigne les sucres présents dans les aliments du quotidien, mis à part le sucre de table qui contient du saccharose, ou sucre non réducteur (Bourdon et Gielfrich, 1972).

Après une minutieuse recherche, seul un article relatant du contenu en sucre réducteurs et non réducteurs du pollen, chez *Phoenix dactylifera* L., a été sélectionné pour la suite de la synthèse. Les travaux de l'équipe scientifique d'Ibrahim et *al.* (2013) sont retransmis (voir Tab. 18) comme suit :

Tableau 18. Teneur en sucres réducteurs et non réducteurs du pollen de palmiers dattiers égyptiens (Ibrahim et *al.*, 2013).

Région	Teneur en suc	res réducteurs	Teneur en sucres non réducteurs		
	(en % MS)		(en % MS)		
	2009	2010	2009	2010	
El-Nahda	3.31	2.50	2.86	3.15	
Rasheed	2.53	4.24	2.32	3.61	
Kafer El-Dawar	2.54	1.96	2.57	2.54	
El-Maragha	2.88	2.40	2.17	2.85	
Tema	2.35	1.90	2.11	2.55	
Tahta	3.45	2.45	2.75	2.65	

Les valeurs présentées ci-dessus sont issues de l'étude réalisée par Ibrahim et *al.* (2013) sur des cultivars mâles de 6 régions d'Egypte, au cours de deux années consécutives. Le taux en sucres réducteurs est déterminé grâce à la liqueur de Fehling, d'après la méthode de Dubois et *al.* (1956); le taux en sucres non réducteurs, quant à lui, est obtenu en soustrayant la teneur en sucres réducteurs à la teneur en sucres totaux. Les valeurs des teneurs en sucres réducteurs et non réducteurs sont exprimées en pourcentage de matière sèche (% MS).

Concernant les sucres réducteurs, la valeur maximale est détenue par les extraits polliniques de la palmeraie de Rasheed pour l'année 2010 avec 4.24% MS. Quant à la valeur minimale, au cours de la même année, c'est la zone de Tema qui enregistre 1.90% MS. A propos des sucres non réducteurs, le taux maximal est observé pour les échantillons de Rasheed, avec 3.61% MS en 2010 et le minimal est obtenu par ceux de Tema en 2009 avec 2.11% MS.

De manière générale, le taux de sucres réducteurs diminue entre 2009 et 2010 dans cinq des six régions de récolte. La diminution la plus marquée est détenue par le pollen de la zone de Tahta avec une baisse significative de 1%, pour une teneur passant de 3.45 à 2.45% MS. Ce fait observé est aussi remarqué pour les palmeraies de El-Nahda; Kafer El-Dawar; El-Maragha; Tema et Tahta en moindre proportion.

L'année de récolte est un facteur important qui influe sur la teneur et la part en sucres réducteurs et non réducteurs dans les pollens. En effet, les échantillons polliniques de Rasheed présentent une nette augmentation quant à leurs taux passant de 2.53 à 4.24% MS entre 2009 et 2010 concernant les sucres réducteurs, ce phénomène est aussi visible pour les sucres non réducteurs de la même région avec 2.32 et 3.61% MS, respectivement pour les années 2009 et 2010.

Il est à noter que les résultats obtenus par l'étude d'Ibrahim et *al.* (2013) sont significativement supérieurs à ceux enregistrés par les saoudiens Bacha et *al.* (1997), affichant une variation en sucres réducteurs allant de 0.053 à 0.177% MS.

C'est sur cette rubrique que se termine la partie consacrée à la composition en métabolites primaires du pollen de palmiers dattiers mâles. Avant de clôturer cette étude palynologique, il semble perspicace d'aborder la viabilité du pollen avec le test de germination *in vitro*.

4.6. Test de germination in vitro

Les plus anciennes publications traitant de la germination du pollen de palmier dattier, datent de l'année 1926, avec les travaux de l'Américain Nixon (1926) et (1928), ainsi que ceux d'Albert (1927). Ces pionniers ont permis, grâce à leurs travaux respectifs, de mettre la lumière sur la palynologie en général, et plus particulièrement sur l'étude de l'espèce faisant l'objet de notre synthèse (*Phoenix dactylifera* L.). Sachant que ce sont les « Dokkars » algériens de la vallée d'El Kantara et de la région d'El Oued qui permirent de mener à bien l'étude la plus complète de l'époque, réalisée par Nixon (1951).

Actuellement, de nombreuses recherches s'intéressent à la germination *in vitro* du pollen, de par sa rapidité à fournir une évaluation de qualité concernant la viabilité de ce dernier. Pour rappel, il est prouvé que le pollen affecte sur le temps de maturité ainsi que sur la taille du fruit (la datte) et des graines comme l'indique Nixon (1926), ceci atteste donc de l'importance de ce type d'étude sur les mâles de l'espèce *Phoenix dactylifera* L., tant sur le plan scientifique qu'économique. Le pourcentage de germination (PG %) se définit comme étant le rapport du nombre de grains ayant germés sur le nombre de grains total.

Pour la réalisation de la présente rubrique, six études différentes ont été retenues, quatre concernant des pollens issus de cultivars algériens et deux autres s'appuyant sur des échantillons polliniques de provenance égyptienne. Chacune de ces études utilise un milieu de culture bien déterminé, s'accordant cependant sur la solidification par agar-agar suivi d'une incubation à 26-27°C durant 24h comme le stipulent Furr et Enriquez (1966).

La première étude algérienne en date, mise en œuvre par Boughediri et Bounaga (1987), s'est penchée sur l'importance du bon paramétrage lors de l'expérience pour la réussite du test de germination *in vitro* sur des pollens de « Dokkars ». En effet, les recherches ont permis de mettre la lumière sur l'importance de l'application de paramètres avec précision. Il est conseillé d'utiliser un milieu de culture gélosé BKM (Brewbaker et Kwack, 1963), modifié, une teneur en saccharose de 15%, mettre en place le dispositif dans l'obscurité, utiliser 0.3% de bore pour l'obtention d'une meilleure forme et une bonne orientation du tube pollinique et régler la température à 27°C ,comme ce fut avancé par Furr et Ream (1968) pour les grains d'autres espèces.

Les deux scientifiques quantifient alors le pourcentage de germination *in vitro* pour les pollens de mâles phénotypiquement reconnus comme appartenant au type : « Deglet Nour » (DN). Les uns originaires d'une palmeraie de la zone de Biskra, obtenant 38.2 %, les autres provenant de la vallée d'Oued Righ, à proximité de Touggourt avec 30.0%. Dès lors, c'est la germination du pollen de Biskra qui semble plus viable que celle de Touggourt. Néanmoins, Boughediri et Bounaga (1987), réagissent en affirmant que le test de germination *in vivo* apporte de meilleurs résultats que celui sur lequel porte cette synthèse.

Concernant le pourcentage de germination proprement dit, certains travaux (voir Tab. 19 et 20) proposent les valeurs rapportées comme suit :

Tableau 19. Pourcentage de germination (PG%) des pollens de différents « Dokkars »
algériens.

Auteurs	« Deglet	« Degla	« Ghars »	« D'guel »	« Mech
	Nour »	Beida »			Degla »
Benamor et	75.37 ± 10.23	78.75 ± 11.71	69.53 ±12.34	62.78 ± 13.06	**
al. (2014)	(58-92)*	(60.67-94.67)*	(54-91)*	(45.67-87.67)*	-
Djerouni et	65.222	75.944	92.833	64.437	76.539
al. (2015)					

^{*} Les valeurs représentent l'intervalle de germination, c'est-à-dire la valeur minimale ainsi que la maximale.

Les résultats présentés (voir Tab. 19) sont issus du test de germination *in vitro* réalisés sur les pollens de différents « Dokkars » algériens originaires de la région d'El Oued et de types phénotypiques : « Deglet Nour » ; « Degla Beida » ; « Ghars » ; « D'guel » ; « Mech Degla ». La récolte est effectuée sur 20 mâles pour chacun des types de pollens et les valeurs sont, en réalité, la moyenne des valeurs trouvées lors du test. Concernant la composition du milieu de germination, les avis des 2 équipes scientifiques sont divisés : Benamor et *al.* (2014) utilisent le milieu de Brewbaker et Kwack (1963) modifié par Furr et Enriquez (1966), contenant 15% de saccharose, contre 15% de glucose pour les travaux de Djerouni et *al.* (2015) qui préfèrent suivre les recommandations de Mortazavi et *al.* (2010) et Kavand et *al.* (2014).

Tableau 20. Pourcentage de germination des pollens de différents cultivars égyptiens (Ibrahim et *al.*, 2013)

Région	Pourcentage de germination (PG %)			
	2009	2010	Moyenne	
El-Nahda	66.18	65.49	65.84	
Rasheed	69.12	71.72	70.42	
Kafer El-Dawar	54.47	55.66	55.07	
El-Maragha	59.68	60.70	60.19	
Tema	62.47	63.67	63.07	
Tahta	61.23	59.36	60.30	

Les valeurs ci-dessus (voir Tab. 20) sont les résultats de l'investigation menée par Ibrahim et *al.* (2013) sur les palmiers mâles de 6 régions différentes durant deux années successives (2009 et 2010). Le test de germination est réalisé grâce à l'utilisation du milieu BKM décrit par Furr et Enriquez (1966), utilisant un taux de 15% de saccharose.

Au sujet des deux études algériennes, il est facilement observable que le rendement de germination pour les variétés « Deglet Nour » et « Degla Beida » de l'étude de Benamor et al. (2014) est supérieur à celui de l'étude de Djerouni et al. (2015), avec des valeurs de 75.37 \pm 10.23 et 78.75 \pm 11.71%, respectivement. Néanmoins, pour les pollens provenant des mâles

^{**} L'étude menée par Benamor et al. (2014) n'a pas réalisée d'estimation pour le type Mech Degla.

« Ghars » et « D'guel », c'est au contraire les échantillons de la deuxième étude en date qui dominent, avec des moyennes respectives de 92.833 et 64.437%.

Les travaux algériens concrétisés dans les palmeraies d'El Oued permettent d'affirmer que pour la germination *in vitro* des grains de pollen de type « Deglet Nour » et « Degla Beida », le milieu favorable est celui contenant du saccharose à 15% et, concernant ceux de « Ghars » et « D'guel », il est plus avantageux d'utiliser le milieu germinatif englobant le glucose à 15%.

Concernant l'étude palynologique égyptienne s'étant intéressée au pourcentage de germination d'échantillons polliniques provenant de différentes zones, l'estimation maximale est obtenue pour les dattiers de Rasheed pour l'année 2010 avec 71.72%, quant à la minimale, elle est détenue par Kafer El-Dawar pour l'année 2009 avec 54.47%. En se basant sur les moyennes des deux années, l'intervalle, quant au taux de germination, s'étend de 55.07 à 70.42% pour les cultivars de Kafer El-Dawar et Rasheed, respectivement. Ces résultats sont en harmonie avec les propos de Shaheen et *al.* (1989) et Al-Helal (1994) qui affirment que la proportion de germination varie beaucoup d'un mâle à l'autre.

De manière générale, les pollens algériens, avec un intervalle allant de 45.67 à 94.67%, tous types confondus pour le travail de Benamor et *al.* (2014), et de 64.437 à 92.833% pour celui de Djerouni et *al.* (2015), sont plus viables que leurs homologues égyptiens, Ibrahim et *al.* (2013) présentant un éventail de valeurs allant de 55.07 à 70.42%.

En outre, Benamor et *al.* (2014), précisent que la réalisation d'un test de germination *in vitro* permet la classification des différents pollens, selon leurs pouvoirs germinatifs, avec : de 45 à 65% un faible taux, de 65 à 75% un taux moyen et de 75 à 95% un fort taux de germination. Ces propos étant appuyés par ceux d'Osman et Asif (1983) et Babahani (2011), affirmant qu'un bon pollen est défini par un taux de germination supérieur à 75%. L'auteur algérien ajoute par ailleurs, que, d'un point de vue quantitatif, 26% des palmiers faisant l'objet de son étude, produisent une bonne quantité de pollen et sont donc inferieurs aux estimations de Nasr et *al.* (1986) avec 46.06% pour des cultivars originaires d'Arabie Saoudite.

C'est la volonté d'améliorer sans cesse la constitution des milieux de culture, pour les études portant sur la phoeniciculture notamment, qui a permis la réalisation de travaux de recherches algériens (voir Tab. 21) et égyptiens (voir Fig. 4) dont les résultats sont relatés comme suit :

Tableau 21. Pourcentage de germination avec variabilité du sucre des milieux
(Mesnoua et <i>al.</i> , 2018)

Composant	Saccharose	Glucose	Fructose	Jus de dattes	PEG	ANA	Témoin
PG %	91.8	-	-	-	3	23.8	66.25

^{* (-):} signifie l'absence totale de germination (inhibition).

Les valeurs rapportées par Mesnoua et *al.* (2018), sont issues de test de germination *in vitro*, développés pour des grains d'avocatier par Alcaraz et *al.* (2011) et appliqués sur les grains de pollen des pieds mâles connus sous la désignation de « Mech Degla ». Ce milieu est composé de 0.42 g/L de nitrate de calcium, de 0.20 g/L d'acide borique, 0.10 g/L de nitrate de potassium ainsi que de 0.22 g/L de sulfate de magnésium. Néanmoins, les palynologues ont ajouté comme variable l'un des composés suivants : saccharose à 20% ; glucose à 20% ; fructose à 20% ; jus de dattes à 30% provenant du type « Degla Beida » ; polyéthylène glycol (PEG) à 10% et acide naphtalène acétique (ANA) à 4 mg/L.

Les résultats présentent une nette différence quant aux différents milieux de germination pour les pollens de « Mech Degla ». Le milieu optimal est détenu par le saccharose à 20% avec un taux de 91.80% de germination. Une inhibition totale du développement du tube pollinique est observée pour les milieux contenant le glucose, le fructose et le jus de dattes. Au sujet du fructose et du jus de dattes, les données sont en accord avec celles obtenues par Okusaka et Hiratsuka (2009) lors de leur étude palynologique sur l'espèce *Pyrus pyrifolia* L. et en désaccord concernant le glucose.

En comparaison avec les valeurs obtenues pour le saccharose et le témoin, l'ANA étant une auxine, ne permet pas le développement d'une grande quantité des grains de pollen (23%), tout comme le PEG, pour qui le faible pourcentage de germination est plus marqué avec 3%, Cette interprétation est en accord avec celle de Pham et *al.* (2015).

Dans la même étude, la détermination de la meilleure dose de saccharose permettant la germination pollinique *in vitro* a mis en évidence que le taux augmente significativement avec la dose de sucres non réducteurs ajoutés jusqu'à atteindre 20%, puis passé ce cap, diminue ; ceci nuançant avec les travaux de Djerouni et *al.* (2015), pour qui le taux le plus remarquable fut observé à 15% de saccharose. De plus, il est clair que les taux de germination supérieurs à 90% sont enregistrés entre 5 et 20%. L'influence des doses de saccharose est expliquée, notamment, par le rôle vital à la fois en tant que régulateur osmotique et composé nutritif comme l'indiquent Pham et *al.* (2015).

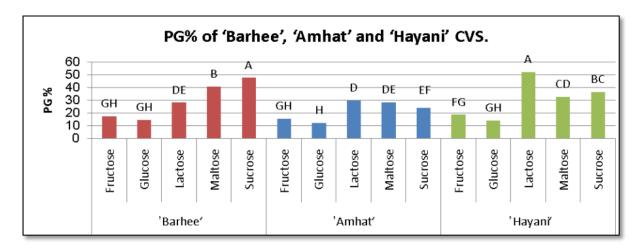


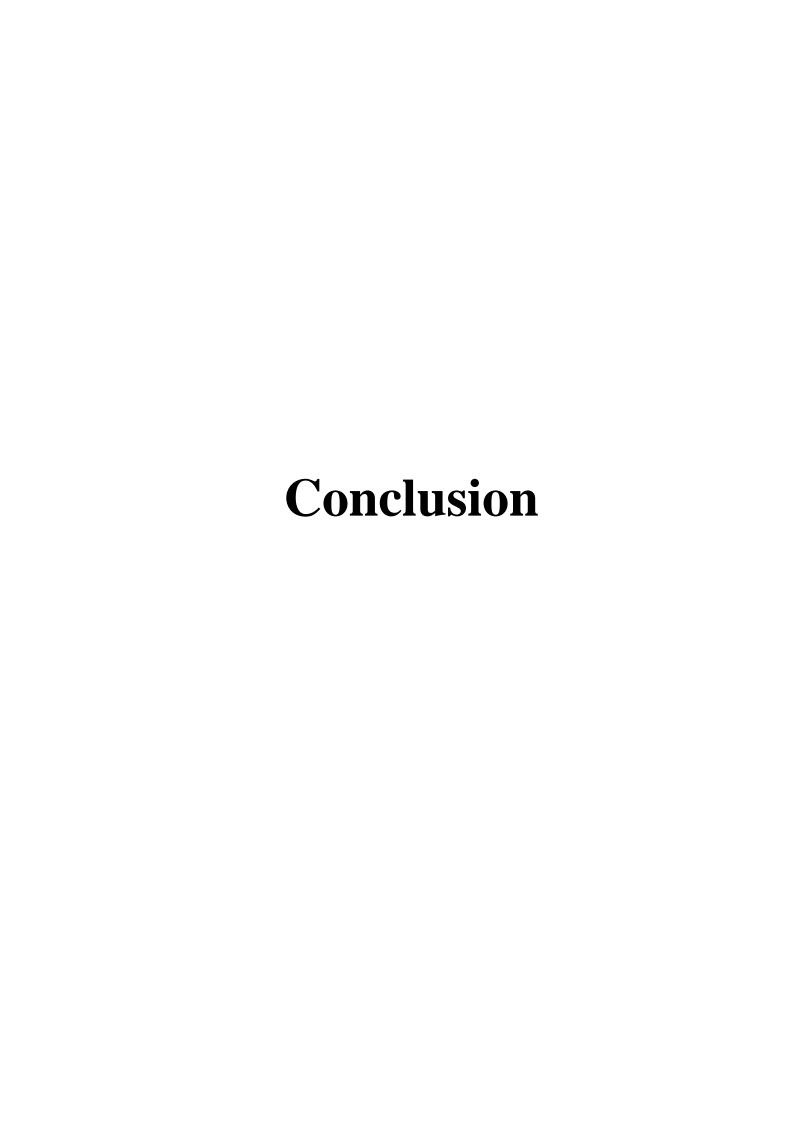
Figure 4. Pourcentage de germination des pollens de 3 cultivars dans des milieux différents en sucres (Ismaïl, 2014).

Les résultats des travaux d'Ismaïl (2014) sur trois types de cultivars : « Barhee », « Amhat » et « Hayani », durant deux saisons (2012 et 2013) sont réalisés d'après le milieu de culture d'Al-Jabori et Zayed (2006.). Ce milieu contient un sucre à 10% (fructose, glucose, lactose, maltose, saccharose), de l'eau distillée, 150 ppm d'acide borique et 1% de gélose. Il est indiqué que le pH du milieu est ajusté à 6.0 avec le couple HCL/NaOH, puis étalonné avec l'aide d'une solution tampon (pH = 4.0).

Il est facilement observable que le milieu optimal pour les pollens issus de mâles de types « Barhee » est le saccharose, obtenant un pourcentage de germination de 47.52%. En l'occurrence, pour les types « Amhat » et « Hayani », le meilleur taux est obtenu grâce au lactose, avec des valeurs de 29.71% et 52.15% respectivement.

A l'issu de ce travail, Ismaïl (2014) en déduis qu'il est clair que la germination des grains de pollen à été influencée par le milieu d'ensemencement et plus particulièrement par leur contenu en composés minéraux ainsi que du type de sucre ajouté au milieu, décrit par Furr et Enriquez (1966). Le pourcentage de germination, quant à lui, varie selon les cultivars et leurs origines génétiques.

Ces dernières hypothèses appuient celles des chercheurs Colas et Mercier (2000), qui montrent que les facteurs qui influencent la viabilité du pollen sont multiples : conditions climatiques, conditions d'échantillonnage, âge de la plante, type de pollen, mode de conservation, état de luminosité et, concernant le milieu où les échantillons polliniques sont cultivés *in vitro* : composition, nature, température, pH et éclairage.



Conclusion

Au cours de cette modeste étude compilant les résultats de 26 recherches publiées, c'est autour du pollen provenant des mâles de l'espèce *Phoenix dactylifera* L. que s'est concentré l'essentiel du travail. L'importance des grains fécondants est indéniable quant au devenir du fruit, tant sur le plan qualitatif que quantitatif. C'est en s'intéressant à la constitution pollinique des dattiers mâles en provenance de différentes régions de par le monde que cette présente synthèse tente de caractériser et de sélectionner le meilleur d'entre eux. Les éléments contenus dans les échantillons polliniques sont passés au crible afin d'établir leurs compositions en métabolites primaires et secondaires, en se penchant, pour terminer, sur le test de germination *in vitro* permettant l'évaluation de la viabilité des grains.

Les travaux portant sur le métabolisme secondaire de la plante, ont permis d'établir un intervalle de teneur en composés phénoliques totaux s'étendant de 0.22 ± 0.003 à 211.11 ± 10.02 mg EAG/g MS, respectivement pour les régions d'Al-Hasa (Arabie Saoudite) et Tozeur (Tunisie). Les meilleures estimations sont enregistrées pour le solvant aqueux, suivi de l'acétone. L'identification met en évidence 4 à 10 composés selon la région, la prédominance de l'acide chlorogénique avec 81.13 mg EAG/g MS et l'ubiquité de l'acide caféique. Le contenu pollinique en polyphénols offre donc une grande variabilité selon le cultivar. De manière plus précise, les facteurs influençant sur la teneur phénolique sont intrinsèques : génétiques, mais aussi extrinsèques : climat, pratiques culturelles, états de maturité, conditions de stockage et mode d'extraction.

Concernant le groupe des flavonoïdes, c'est le plus fourni des composés phénoliques. Cette classe offre des teneurs s'étalant de 0.0613 mg EQ/g MS pour les mâles d'Al-Hasa à 22.25 ± 2.86 mg EQ/g MS pour ceux des palmeraies de Tozeur. Pour le rendement du mode d'extraction, c'est l'acétone qui tient la première position et l'hexane qui termine le classement. L'identification des composés offre un panel variant de 3 à 6 selon le mâle et la région, la supériorité ubiquitaire est affirmée par l'isorhamnetine, la rutine et la quercétine. Cette dernière affiche la concentration la plus élevée lors d'une étude au Caire (Egypte) avec 19.20 mg EG/g MS. Concrètement les flavonoïdes, réputés pour leurs propriétés médico-pharmacologiques, sont présents de façon très variable chez les cultivars mâles en raison de l'influence de facteurs biologiques, agronomiques, génotypiques et environnementaux.

Les études traitant du métabolisme primaire, présentent un intervalle allant de 17.37 à 56.40 g/100 g MS de contenu protéique pour les échantillons polliniques des zones d'El-

Maragha (Egypte) et El-Bassrah (Irak), respectivement. Sur le plan régional, les mâles issus d'une même région présentent une quasi-égalité pour Rasheed (Egypte) et une différence significative pour El-Maragha. L'éthanol favorise le rendement pour l'extraction organique. Les variations de la composition en protéines du pollen sont dues à l'environnement, la maturation, l'âge du palmier et la saison de récolte.

A propos des glucides, le taux oscille entre 4.45% MS pour la région de Tema (Egypte) et 26.25% MS pour les palmiers d'El-Bassrah (Irak). Les grains de pollen irakiens sont significativement plus élevés en sucres totaux que ceux d'Egypte. La teneur en sucres réducteurs (1.90 à 4.24% MS) est légèrement plus élevée et plus étalée que celle des sucres non réducteurs (2.11 à 3.61% MS). La période de récolte, la méthode colorimétrique utilisée pour le dosage, les différences génotypiques, les températures élevées et la photosynthèse sont tous des paramètres influençant sur la concentration glucidique des échantillons polliniques.

La germination réalisée *in vitro* montre des intervalles allant de 45.67 à 94.67% pour les pollens issus des « Dokkars » algériens d'El Oued, avec une prédominance établie pour les types phénotypiquement reconnus comme « Degla Beida » et « Ghars » selon l'auteur. Le pouvoir germinatif oscille entre 54.47 et 71.72% pour les cultivars égyptiens de six régions différentes. Le milieu de germination joue un rôle majeur quant à la rentabilité des résultats du test. C'est le saccharose, avec un taux variant de 5 à 20%, associé au milieu BKM de Furr et Enriquez (1966), qui permet l'optimisation du résultat du test de germination. Néanmoins, il est important de montrer que différents facteurs sont à l'origine de la disparité existante dans les estimations comme la génétique, les conditions climatiques, l'état de maturation lors de la récolte, les conditions de conservation ainsi que la composition du milieu de culture.

Dans un but de continuité, il faut élargir l'étude palynologique chez les mâles de l'espèce *Phoenix dactylifera* L. en dosant la teneur en lipides totaux ainsi que l'identification des composés lipidiques et des acides aminés en présences. D'un point de vue lucratif, il est intéressant de mieux valoriser le potentiel et l'influence des grains de pollens quant à l'obtention de meilleures dattes, tant sur le plan quantitatif que qualitatif. D'un point de vue nutritionnel, il est judicieux de se pencher sur l'intérêt du pollen de palmier dattier en tant que complément alimentaire. Enfin, d'un point de vue sanitaire, il désirable d'approfondir les recherches médico-biologiques axées sur la capacité du pollen de dattier à renforcer la fertilité, voire même, dans un futur proche, à remédier à la stérilité masculine et féminine.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- 1. Abbas, F. A., Ateya, A. M. 2011. Estradiol, esteriol, estrone and novel flavonoids from date palm pollen. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5 (8): 606-614.
- 2. Abdel-Hameed, E. 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of Egyptian Ficus species leaf samples. Food Chemistry, 114 (4): 1271-1277.
- 3. Abdel-Sattar, M., Mohamed, Y. 2017. Pollen viability of date palm from different sources in relation to its chemical composition. Alexandria Journal of Agricultural Sciences, 62 (2): 149-155.
- 4. Abed, A. K. 2005. Determine of carbohydrates, protein and phenolic compounds content in pollen grains of three date palm *phoenix dactylifera* male cultivars. Date palm research center, 4: 141-151.
- Abed, A. K., Hantosh, A. A., Al-Saad, H. T., Zadan, M.A., and Kames, A. S. 2011. Seasonal variations of some biochemical Aspects for five species of date palm (1-mineral content). Basra Science Journal. Date Palm Research Center, 37: 50-66.
- 6. Abou-Zeid, H. M., Shiha, M. A., Shehata, A. A. 2019. Comparative study of pollen grains morphology and phytochemical constituents of some saudi arabian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 8 (7): 2800-2809.
- 7. Agashe, S. N., Caulton, E. 2009. Pollen and spores: Applications with special emphasis on aerobiology and allergy. Ed.Science Publishers, USA.
- 8. Al Helal, A. A. 1994. Response of date palm pollen tube growth to storage period and conditions. Qatar Univ. Sci. J., 14 (1): 71-75.
- 9. Albert, D. W. 1927. A study of the pollen of *Phoenix dactylifera* with reference to its longevity and effect on the fruit. Memoire de master, The University of Arizona, 32 p.
- 10. Alcaraz, M. L., Montserrat, M., Hormaza, J. I. 2011. In vitro pollen germination in avocado (*Persea americana Mill.*): Optimization of the method and effect of temperature. Scientia Horticulturae, 130: 152-156.
- 11. Al-Jabori, M., Zayed, A. 2006. Cultivation and production technology palms. Regional Office of the Food and Agriculture in the Near East. FAO, pp. 430-444.
- 12. Alkhalifah, N., Askari, E. 2003. Molecular phylogeny of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars from Saudi Arabia by DNA fingerprinting. Theoretical and applied genetics, 107: 1266-1270.
- 13. Al-Samarai, A. H., Al-Salihi, F., Al-Samarai, R. 2016. Phytochemical constituents and nutrient evaluation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pollen grains. Tikrit Journal of Pure Science, 21: 56-62.
- 14. Al-Samarrai, R. R., Al-Salihi, F. G., Al-Samarrai, M. A. 2017. Identification of flavonoids in Iraqi date palm pollen By HPLC. Orient J. Chem., 33 (2): 985-988.

- 15. Al-Tahir, O., Asif, M. 1982. Stain testing of date pollen viability. Date Palm Journal, 1 (2): 233-237.
- 16. Al-Tahir, O. A., Abdul-Salam, M. A., Al-Ghamdi, A. S., Al-Khateeb, S. 2007. Study of the chemical composition of pollen in some date palm (*Phoenix dactylifera* L.) males. The third symposium on the date palm, Al-Hassa, Saudi Arabia: 261-264.
- 17. AOAC. 1995. Official method of analysis of the association of official analytical chemist. 16th Edn.: Association of Official Analytical Chemists. Washington, USA
- 18. Babahani, S. 1991. Caractérisation et évaluation des palmiers mâles (Dokkars) de la collection de Hassi Ben Abdallah. Mémoire d'Ing, INFS/AS, Ouargla, 48 p.
- 19. Babahani, S. 2011. Analyses biologique et agronomique de palmiers mâles et conduite de l'éclaircissage des fruits chez les cultivars Ghars et Deglet Nour. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El Harrach, Alger, 203p.
- 20. Bacha, M., Ali, M., Farahat, F. 1997. Chemical composition of pollen grains of some date. Saudi Arabia. Arab Gulf J. Scientific Res., 15 (3): 783-803.
- 21. Bagnouls, F., Gaussen, H. 1957. Les climats biologiques et leur classification. Annales de Géographie, 66 (355): 193-220.
- 22. Barbier-Pain, D. 2009. Les sciences de l'archéologie : La palynologie. Schuch Conseils et production. Inrap, Paris.
- 23. Basuny, A. M., Arafat, S. M., Soliman, H. M. 2013. Chemical analysis of olive and palm pollen: Antioxidant and antimicrobial activation properties. Wudpecker Journal of Food Technology, 1 (2): 14-21.
- 24. Benamor, B. 2016. Selection of male date palms *Phoenix dactylifera* L. in "Daouia" station (Oued Souf, Algeria). Thèse de Doctorat, Bio. Vég. et environnement, Unv. Annaba. 117 p.
- 25. Benamor, B., Boughediri, L., Chala, A. 2014. Selection of male date palms (*Phoenix dactylifera* L.) at "Daouia" station (Oued Souf, Algeria). Advances in Environmental Biology, 8 (24): 29-36.
- 26. Bengag, A. 2009. Caractérisation phytochimique et activité antioxydant de quelque cultivars de *Phoenix dactylifera* L. Memoire de magister, Univ. d'Oran-Es Sénia, 79 p.
- 27. Benguerba, A. 2008. Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L. Thèse de magister en chimie organique option phytochimie, Universite Mentouri Constantine, Algerie, 91 p.
- 28. Bentayeb, Y., Moumen, Y., Chentouh, S., Boulahbel, S., Hadjeras, R. 2019. Effet protecteur des grains de pollen de palmier (*Phoenix Dactylifera* L.) sur la fonction immunitaire des lapins males apres l'exposition au diethyle phtalate. Revue des bioressources, Kasdi Merbah, Ouargla, 9 (1): 62-69.
- 29. Bentrad, N., Gaceb-Terrak, R., Benmalek, Y., Rahmania, F. 2017. Studies on chemical composition and antimicrobial activities of bioactive molécules from date palm

- (*Phoenix dactylifera* L.) pollens and seeds. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines, 14 (3): 242-256.
- 30. Benzahia, H., Taibi, F. 2019. Etude biologique et activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait du pollen de quelques variétés mâles de palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. Memoire de master en Biodiversité et Physiologie végétal, Université Mohamed Boudiaf, M'sila. 63 p.
- 31. Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., Sapirstein, H. 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. Cereal chemistry, 82 (4): 390-393.
- 32. Boughediri. 1994. Le pollen de palmier dattier : approche multidisciplinaire, modelisation multiparametrique en vue de creer une banque de pollens, Paris 6, 163p.
- 33. Boughediri, L. 1985. Contribution à la connaissance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) étude du pollen. Thèse de Magister, B.V, U.S.T.H.B, Alger, 130 p.
- 34. Boughediri, L. 1991. Mineral composition of the exine of two male date palms (*Phoenix dactylifera* L). Grana, 30 (2): 525-527.
- 35. Boughediri, L., Bounaga, N. 1987. *In vitro* germination of date pollen and its relation to fruit set. Date Palm J., 5 (2): 120-127.
- 36. Boughediri, L., Cerceau-Larrival, M.-T., Doré, J.-C. 2009. Significance of freeze-drying in long term storage of date palm pollen. Grana, 34 (6): 408-412.
- 37. Bouguedoura, N. 1991. Connaissance de la morphogénèse du palmier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude *in situ* et *in vivo* du développement morphogénétique des appareils végétatifs et reproducteurs. Thèse Doctorat d'Etat en bio. vég., USTHB, Alger, 201 p.
- 38. Bouillet, M. N. 1859. Dictionnaire universel des sciences, des lettres et des arts, 4 éme édition. Paris.
- 39. Boulekbache, L. 2005. Profil GC-MS des polyphénols d'une plante médicinale : *Eucalyptus globulus*. Mémoire de Magister, Université de Bejaïa, 71p.
- 40. Bourdon, D., Gielfrich, H. 1972. Observations sur la méthode de Gabriel Bertrand pour le dosage des sucres réducteurs. Article dans une revue, Sc. Agro. Rennes, 13 p.
- 41. Brewbaker, J. L., Kwack, B. H. 1963. The essential of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. American Journal of Botany, 50: 859-865.
- 42. Brion, P., Lafont, R.2007. Structure des protéines. Encyclopædia Universalis. Paris.
- 43. Bruneton, J. 2009. Pharmacognosie-phytochimie, plantes médicinales. Eds Lavoisier Tec et Doc. (4e éd.). Paris.
- 44. Cerceau-Larrival, M. T., Challe, J. 1986. Biopalynology and maintenance of germination capacity of stored pollen in sorne angiosperm families. Ln: Pollen and Spores: Form and fonction ,Vol. 12, Londres.
- 45. Chaouch Khouane, A. 2012. Etude de l'effet de la pollinisation de differents pollens et de l'acide gibberellique (AG3) sur la production et la qualité des dattes produites par le

- palmier dattier (*Phoenix dactilyfera* L.) variété « Deglet Nour ». Thèse de magister en science agronomique, Université Mohamed Khider-Biskra, 211 p.
- 46. Clément, V.A. 2008. Dosage de différents constituants de la plante et de marqueurs biochimiques de stress. Madagascar : Formation Ecobio-Cirad. 40 p.
- 47. Colas, F., Mercier, S. 2000. Évaluation et maintien de la viabilité des pollens utilisés dans le programme d'amélioration des arbres. Mémoire de recherche forestière. Service de la génétique, la reproduction et de l'écologie (135) ,Québec, Canada : Ministère des Ressources naturelles, Direction de la recherche forestière, p 6.
- 48. Dajoz, P. 2006. Précis d'écologie. Ed. Dunod (8° édition). Paris.
- 49. Daoud, A., Malika, D., Bakari, S., Hfaiedh, N., Mnafgui, K., Kadri, A. 2015. Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of DPP from two Tunisian cultivars. Arabian J. of Chem., 12: 3075-3086.
- 50. Dib, Y. 1991. Caractérisation et évaluation des palmiers dattiers mâles Dokkars de la collection de la station expérimentale ITDAS d'El Arfiane (wilaya d'El Oued). Mem. D'Ing, INFS/AS, Ouargla, 65 p.
- 51. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassoun, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food chemistry., 97 (4): 654-660.
- 52. Djerouni, A., Chala, A., Simozrag, A., Benmehaia, R., Baka, M. 2015. Evaluation of male palms used in pollination and the extent of its relationship with cultivars of datepalms (*Phoenix dactylifera* L.) Grown in region of Oued Righ, Algeria. Pak. J. Bot., 47 (5): 2295-2300.
- 53. Dreywood, R. 1946. Qualitative test for carbohydrate material. Industrial et Engineering Chemistry Analytical Edition, 18 (8): 499-499.
- 54. DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry, 28 (3): 350-356.
- 55. Dubost, D. 1991. Ecologie, aménagement et développement agricole des oasis algériennes. Thèse de doctorat en Géographie, Université François Rabelais. Département de géographie (Tours), 540 p.
- 56. Dubost, D. 2002. Ecologie, aménagement et développement agricole des oasis algériennes (Vol. 1). Ed. Centre de Rech. Scient. et Tech. sur les régions, Biskra, 423 p.
- 57. El-Kholy, W., Soliman, T., Darwish, A. 2019. Evaluation of date palm pollen (*Phoenix dactylifera* L.) encapsulation, impact on the nutritional and functional properties of fortified yoghurt. PloS ONE., 14 (10): 23p.
- 58. El-Meleigi, M. 1985. The relationship of albumins, globulins and hordeins in barley kernels to barley covered-smut resistance. Journal of the College of Agriculture. King Saud University, 7 (1): 221-231.

- 59. El-Neweshy, MS, El-Maddawy, ZK, El-Sayed, YS. 2013. Therapeutic effects of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pollen extract on cadmium-induced testicular toxicity. Andrologia, 45(6): 369-378.
- 60. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes rendus biologies., 331 (5): 372-379.
- 61. Farouk, A., Metwaly, A., Mohsen, M. 2015. Chemical composition and antioxidant activity of date palm pollen grains (*Phoenix dactylifera* L. *Palmae*) essential oil for "Siwe" cultivar cultivated in Egypt. Middle East J. of Applied Sciences, 5 (4): 945-949.
- 62. Faurie, C., Ferra, C., Medori, P. 1980. Ecologie. (J. Bailliere, Éd.) Paris.
- 63. Furr, J.R., Enriquez, V.M. 1966. Germination of date pollen in culture media. Date Grower's Inst., 43: 24-27.
- 64. Furr, J.R., Ream, C.L. 1968. The influence of temperature on germination of date pollen. Date Growers' Inst. Rep. 45: 7-9.
- 65. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. Molecular, 15: 8813-8826.
- 66. Geissman, T. 1962. The chemistry of flavonoid compounds. Oxford: Pergamon Press.
- 67. Genevès, L. 1997. Reproduction et développement des végétaux. Les archives paléontologiques pour reconstituer les variations climatiques au cours du quaternaire, Ed. Dunod Biosciences, Paris, 233 p.
- 68. Ghanema, K. Z., Ramadanb, M. M., Ghanem, H. Z., Fadel, M. 2015. Improving the production of unsaturated fatty acid esters and flavonoids from date palm pollen and their effects as anti-breast-cancer and antiviral agents: an *in-vitro* study. Journal of the Arab Society for Medical Research, 10: 47-55.
- 69. Giray, E.S., Kirici, S., Kaya, D.A., Turk, M., Sumez, Z., Inan, M. 2008. Comparing the effect of sub critical water extraction of Lavandulastoechas. Talanta. 70: 930-935.
- 70. Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Roman, D., Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. J. of Pharm. and Biomedical Analysis, 41 (4): 1220-1234.
- 71. Goupy, P., Hugues, M., Boivin, P., Amiot, M. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. Journal Sci. Food Agriculture, 79: 1625-1634.
- 72. Granado-Serrano, A. B., Martín, M. A., Izquierdo-Pulido, M., Goya, L., Bravo, L., Ramos, S. 2007. Molecular mechanisms of (–) epicatechin and chlorogenic acid on the regulation of the apoptotic and survival/proliferation pathways in a human hepatoma cell line. Journal of agricultural and food chemistry, 55: 2020-2027.
- 73. Grayer, R. J., Harborne, J. B. 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. Phytockmistry, 37 (1): 19-42.

- Grzesik, M., Naparło, K., Bartosz, G., Sadowska-Bartosz, I. 2018. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. Food Chem., 241: 480-492.
- 75. Haddoud, S. 2018, 30 juin. Président du comité interprofessionnel des dattes algériens. (N. Boudedja, Intervieweur).
- 76. Halimi, H. 2004. La caractérisation des palmiers dattiers males dans la région de ouargla en vue d'une sélection qualitative. Thèse de magister en agronomie Saharienne option : Protection de l'environnement en zone aride. Département d'agronomie, Univ Kasdi merbah. Ouargla, Algérie, 101p.
- 77. Harris, R. 1977. Effects of agricultural practices on the composition of foods. Dans R. Harris, R., Karmas, E., Nutritional evaluation of food processing, The Avi Publishing Company Inc., New York, pp. 33-57.
- 78. Hassan, H. M. 2011. Chemical composition and nutritional value of palm pollen grains. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry 6 (1): 01-07.
- 79. Herzog, F., Kahraman, A., Boehringer, D., Mak, R., Bracher, A., Walzthoeni, T. 2012. Structural probing of a protein phosphatase 2A network by chemical cross-linking and mass spectrometry. Science (New York, N.Y.), 337: 1348-1352.
- 80. Hifnawy, M. S., Mahrous, A. M., Ashour, R. M. 2016. Phytochemical investigation of *Phoenix canariensis* Hort. Ex Chabaud leaves and pollen grains. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6 (12): 103-109.
- 81. Hifnawy, M. S., Mahrous, A. M., Sleem, A. A., Ashour., R. M. 2018. Nutritional and biological evaluation of *Phoenix canariensis* pollen grains. Revista Brasileira de Farmacognosia, 28: 710-715.
- 82. Horiuchi, K., Shiota, S., Hatano, T., Yoshida, T., Kuroda, T., Tsuchiya, T. 2007. Antimicrobial activity of oleanolic acid from salvia officinalis and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). Biological and Pharmaceutical Bulletin, 30 (6): 1147-1149.
- 83. Human, H., Nicolson, S. W. 2006. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of Aloe greatheadii var. davyana (Asphodelaceae). Phytochemistry, 67 (14): 1486-1492.
- 84. Hyde, H. A., Williams, D. A. 1944. Studies in atmospheric pollen. I. a daily census of pollens at Cardiff, 1942. The New Phytologist, 43 (1): 49-61.
- 85. Ibrahim, A., El–Sabrout, M., Nahla, A. 2013. Evaluation of some date palm male types using morphological and molecular markers. Egypt. J. Hort., 40 (1): 81-99.
- 86. Ismail, O. M. 2014. In vitro germination of date palm pollen grains affected by different sugar types. Research Journal of Pharm. Bio. and Chem. Science, 5 (1): 880-886.
- 87. Jassem, A., Arkan Yaqoub, Y., Al-Jubouri, S. 2000. Using the neutron activation analysis technique to estimate the protein and mineral elements in pollen of different varieties of male palms. Journal of Agricultural Sciences, 1: 41-55.

- 88. Kadry, M., Megeed, R., Ghanem, H., Abdoon, A. S., Abdel-Hamid, A. Z. 2019. Does glycogen synthase kinase-3 β signaling pathway has a significant role in date palm pollen cancer therapy. Egyptian Pharmaceutical Journal, 18 (3): 208-215.
- 89. Kavand, A., Ebadi, A., Shuraki, Y. D., Abdosi, V. 2014. Effect of calcium nitrate and boric acid on pollen germination of some date palm male cultivars. European Journal of Experimental Biology., 4 (3): 10-14.
- 90. Li, H., Wong, C., Cheng, K., Chen, F. 2008. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. LWT–Food Sci. Technol. 41: 385-390.
- 91. Linné, C. V. 1753. Species Plantarum, tome 2. Impensis Laurentii Salvii, 776 p.
- 92. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. L., Randall, R. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry, 193 (1): 265-275.
- 93. MADRP. 2017. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et de la pêche. Les statistiques agricole.
- 94. Malik, C. P., Singh, M. B. 1980. Plant enzymology and histo-enzymology: A text manual. New Delhi: Kalyani Publishers.
- 95. Marco, G. J. 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. Journal of the American Oil Chemists' Society, 45 (9): 594-598.
- 96. Markham, K. 1982. Techniques of flavonoid identification. London: Academic Press.
- 97. Marouf, A., Tremblin, G. 2013. Memento technique à l'usage des biologistes et des biochimistes, EDP Sciences, Grenoble, France.
- 98. Mattila, P., Astola, J., Kumpulainen, J. 2000. Determination of flavonoids in plant material by HPLC with Diode-Array and Electro-Array Detections. Journal of Agri. Food Chem., 48: 5834-5841.
- 99. Merrouchi, L. 2009. Caractérisation d'un agro système oasien, évolution et perspectives de développement. Thèse de magister. Département des sciences agronomiques., Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie, 87 p.
- 100. Mesnoua, M., Roumani, M., Bensalah, M. K., Salem, A., Benaziza, A. 2018. Optimization of conditions for in vitro pollen germination and pollen tube growth of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). J. of Fund. and Applied Sciences, 10 (1): 158-167.
- 101. Mesquida, J., Renard, M. 1989. Etude de l'aptitude à germer in vitro du pollen de colza (*Brassica napus* L.) récolté par l'abeille domestique (*Apis mellifica* L.). Apidologie, 20 (3): 197-205.
- 102. Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R. 2004. Botanique. Biologie et physiologie végétales. Ed.Maloine. Paris.
- 103. Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., Estevinho, L. 2008. Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. Food and Chemical toxicology, 46 (11): 152-163.

- 104. Mortazavi, S. M., Arzani, K., Moeini, A. 2010. Optimizing storage and in vitro germination of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pollen. Journal of Agricultural Science and Technology, 12: 181-189.
- 105. Munier, P. 1973. Le palmier dattier. Maisonneuve & Larose, Paris.
- 106. Nasr, T. A., Shaheen, M., Bacha, M. 1986. Evaluation of seedling male palms used in pollination in the central region of Saudi Arabia. Date Palm Journal, 8: 163-175.
- 107. Navarre, J. P. 1974. Manuel d'oenologie (2éme édition), J.B.Baillier, Paris, 218p.
- 108. Nixon, R. W. 1926. Experiments with selected pollens. Date Growers Institute, 3: 11-14.
- 109. Nixon, R. W. 1928. The direct effect of pollen on the fruit on the date palm. J. Agri. Res., 36: 97-128.
- 110. Nixon, R. W. 1951. Fruit thinning experiments with the Medjool and Barhee varieties of dates. Date Growers' Inst. Report, 28: 14-17.
- 111. Okusaka, K., Hiratsuka, S. 2009. Fructose inhibits pear pollen germination on agar medium without loss of viability. Scientia Horticulturae, 122: 51-55.
- 112. Osman, A. M., Asif, M. 1983. Study of variation in date pollen material. In the first Symposium on the date palm, pp. 62-65.
- 113. Otify, A. M., El-Sayed, A. M., Michel, C. G., Farag, M. A. 2019. Metabolites profiling of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) commercial by-products (pits and pollen) in relation to its antioxidant effect:a multiplex approach of MS and NMR metabolomics. Metabolomics: Official Journal of the Metabolomic Society, 15 (9): 119.
- 114. Padda, M., Picha, D.H. 2007. Methodology optimization for quantification of total phenolics and individual phenolic acids in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) roots. Journal of Food Science, 72: 412-416.
- 115. Pálfi, G., Gulyas, S. 1985. Rapid determination of pollen fertility of two insect pollinated plant species by staining with the aid of proline-isatin reaction. Acta Biol (Szeged), 31: 49-53.
- 116. Pandey, K. B., Rizvi, S. I. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative medicine and cellular longevity, 2(5): 270-278.
- 117. Park, Y. K., Koo, M. H., Sato, H. H., Contado, J. L. 1995. Survey of some components of propolis which were collected by *Apis mellifera* in Brazil. Arquivos de biologia e Tecnologia., 38: 1253-1259.
- 118. Park YK, Hikegaki MJ, Abreu A, Alcici NM, Estudo F. 1998. Da preparacao dos extracto de propolise suas aplicacoes. Ciencia e Technol. Alimentos, 18: 313-318
- 119. Pesquidoux, J. 1925. Le livre de raison VII, Plon-Nourrit et Cie, Paris.
- 120. Peyron, G. 1989. Agronomie oasienne Egypte. Amélioration des systèmes de production oasiens. Importance du mâle pour la production dattière. Travaux de présélection mâle en palmeraie égypt, CIRAD-DSA, Montpellier, France, 374 p.

- 121. Peyron, G. 2000. Cultiver le palmier-dattier. Éd : Cirad, Gridao, France.
- 122. Pham, V., Herrero, M., Hormaza, J. 2015. Effect of temperature on pollen germination and pollen tube growth in longan (*Dimocarpus longan* L.). Scientia Horticultura, 197: 470-475.
- 123. Podsędek, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT- Food Science and Technology, 40 (1): 1-11.
- 124. Pons, A. 1958. Le pollen (éd. Presses Univ. de France), Collection Que sais-je?, Paris.
- 125. Pons, A. 1970. Le pollen (éd. Presses Univ. de France), Collection Que sais-je?, Paris.
- 126. Pressman, E., Peet, M. M., Pharr, D. M. 2002. The effect of heat stress on tomato pollen characteristics is associated with changes in carbohydrate concentration in the developing anthers. Annals of Botany, 90 (5): 631-636.
- 127. Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckweat hulls. J. ethnopharmacol, 72: 35-42.
- 128. Rajeswari, G., Murugan, M., Mohan, VR. 2012. GC–MS analysis of bioactive components of *Hugonia mystax* L. (Linaceae). J. Pharm. Biol. Chem. Sci., 3: 301-308.
- 129. Ramadan, M., Yehia, H., Shaheen, M., Abed EL-Fattah, M. 2014. Aroma volatiles, antibacterial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from spices widely consumed in Egypt. Americ-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 14 (6): 486-494.
- 130. Rezanejad, F. 2012. Air pollution effects on flavonoids in pollen grains of some ornamental plants. Turkish Journal of Botany, 36: 49-54.
- 131. Ribéreau-Gayon, P., Gautheret, R. 1968. Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris.
- 132. Rival, A. 2010. Palmier à huile, palmier dattier : deux cultures stratégiques, Ecologie, Vol. 315, Paris.
- 133. Sebii, H., Karra, S., Bchir, B., Ghribi, A. M., Danthine, S. M., Blecker, C. 2019. Physico-chemical, surface and thermal properties of date palm pollen as a novel nutritive ingredient. Advances in food techno. and nutritional sciences, 5 (3): 84-91.
- 134. Serra Bonvehí, J., Soliva Torrentó, M., Centelles Lorente, E. 2001. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honey bee-collected pollen produced in Spain. Journal of agricultural and food chemistry, 49: 1848-1853.
- 135. Shaheen , M., El- Meleigi, M. 1991. Identification of date palm male cultivars by the electrophoresis pattern of pollen soluble proteins. Env. Arid Land Agric. Sci, 2: 97-103.
- 136. Shaheen, M. 1983. Identification of some seedling and date palm by pollen ultrastructure. Journal of the College of Agriculture, King Saud University, 5: 137-142.
- 137. Shaheen, M., Nasr, T., Bacha, M. 1989. Effect of male type on fruit setting yield and fruit physical properties in some date palm cultivars. Journals Annals Agric. Sci. Fac. Agric., Ain Shams Univ. Cairo, Egypt., 34 (1): 283-299.

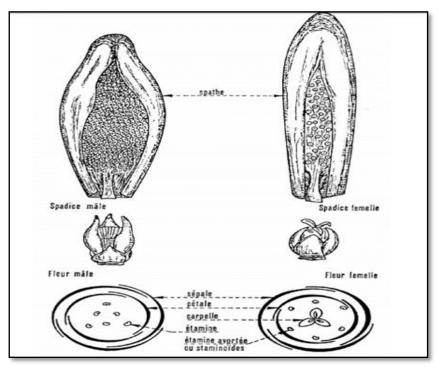
- 138. Shivanna, K. R., Cresti, M. 1989. Effects of high humidity and temperature stress on pollen membrane integrity and pollen vigour in Nicotiana tabacum. Sexual Plant Reproduction, 2: 137-141.
- 139. Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16 (3): 144-158.
- 140. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagen. Methods in Enzymology., 299: 152-178.
- 141. Sogetha-Sogreah. 1971. Participation à la mise en valeur de l'Oued-Righ. Etude agropédologique, Doc. Poly., MTPC, Alger, pp. 7-36.
- 142. Solberg, Y., Remedios, G. 1980. Chemical composition of pure and bee-collected pollen. Scientific Reports Agricultural University of Norway, 59: 2-12.
- 143. Stanley, R. G. 1971. Pollen chemistry and tube growth. Dans Heslop-Harrison (Éd.), Pollen Development and Physiology, Butterworth-Heinemann, London, pp. 131-155.
- 144. Stanley, R. G., Linskens, H. F. 1974. Viability tests. Pollen: Biology Biochemistry Management, Heidelberg: New York, pp. 67-86.
- 145. Tamime, A., Kalab, M., Davies, G., Mahdi, H. 1991. Microstructure and firmness of Labneh (high solids yoghurt) made from cow's, goat's and sheep's milks by a traditional method or by ultrafiltration. Food Struct., 10: 37-44.
- 146. Tawaha, K., Alali, F., Gharaibeh, M., Mohammad, ,. M., El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food chemistry, 104 (4): 1372-1378.
- 147. Taylor, L. P., Hepler, P. K. 1997. Pollen germinantion and tube growth. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48: 461-491.
- 148. Vignais, P. 2001. La biologie des origines à nos jours : une histoire d'idées et d'hommes, EDP Sciences, Grenoble.
- 149. Vuorela, S. 2005. Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Doctoral dissertations, University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry, Applied Chemistry and Microbiology, Helsinki, 75 p.

Sites Web:

- 1. A.N.R.H. 2006. Etude de la vallée d'Oued Righ.
- 2. Google Earth. 2020.
- 3. Google Maps. 2020.
- 4. O.N.M. Touggourt. 2020.

Annexes

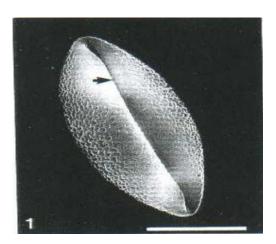
Annexes



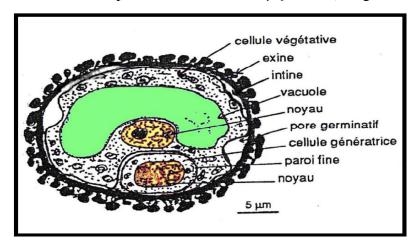
Annexe 1. Inflorescences et fleurs du palmier dattier.

Annexe 2. Composition chimique du pollen en pourcentage par rapport au poids sec (Pons, 1970).

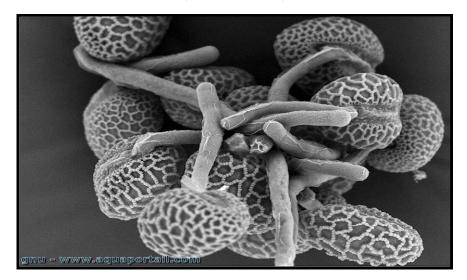
Principaux Constituants	Pourcentage
Eau (Pollen frais)	8 – 16
Eau (Pollen sec)	3 – 5
Glucides	25 - 42
Lipides	1 - 20
Protides	11 - 29
Protéines allergéniques	0.5 - 1
Antigène E	0.5 - 6
Antigène K	3
Sels minéraux	1 - 8
Cendres	5
Corps indéterminés	20
Rutine	0.017
Vitamines	0.015
Pigments	Traces
Flavonoïdes, slavonnes, stérols	Traces



Annexe 3. Structure du pollen de *Phoenix Dactylifera* L. (Boughediri, 1991).



Annexe 4. Coupe de grain de pollen Angiosperme au microscope électronique (Geneves, 1997).



Annexe 5. Observation microscopique de grains de pollen avec tube pollinique (Taylor et Hepler, 1997).

Annexe 6. Tableau présentant les articles scientifiques servant de support à la réalisation de la partie expérimentale de la présente étude (par ordre chronologique).

N°	Titre	Auteurs (Année)
1	In vitro germination of date pollen and its relation to fruit set.	(Année) Boughediri et Bounaga (1987)
2	Identification of date palm male cultivars by the electrophoresis pattern of pollen soluble proteins.	Shaheen et El- Meleigi (1991)
3	Using the neutron activation analysis technique to estimate the protein and mineral elements in pollen of different varieties of male palms.	Jassem et <i>al</i> . (2000)
4	Determine of carbohydrates, protein and phenolic compounds content in pollen grains of three date palm <i>Phoenix dactylifera</i> L. male cultivars.	Abed (2005)
5	Estradiol, esteriol, estrone and novel flavonoids from Date Palm Pollen.	Abbas et Ateya (2011)
6	Seasonal variations of some biochemical aspects for five species of date palm (1-mineral content).	Abed et <i>al</i> . (2011)
7	Chemical composition and nutritional value of Palm Pollen grains.	Hassan (2011)
8	Chemical analysis of olive and palm pollen: Antioxidant and antimicrobial activation properties.	Basuny et <i>al</i> . (2013)
9	Evaluation of some Date Palm Male types using morphological and molecular markers.	Ibrahim et <i>al</i> . (2013)
10	Selection of male date palms (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) at "Daouia" station (Oued Souf, Algeria).	Benamor et <i>al</i> . (2014)
11	In vitro germination of date palm pollen grains affected by different sugar types.	Ismaïl (2014)
12	Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of Date Palm Pollen (DPP) from two Tunisian cultivars.	Daoud et <i>al</i> . (2015)
13	Evaluation of male palms used in pollination and the extent of its relationship with cultivars of date palms (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) grown in region of Oued Righ, Algeria.	Djerouni et <i>al</i> . (2015)
14	Chemical composition and antioxidant activity of Date Palm Pollen grains (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) palmae essential oil for "Siwe" Cultivar Cultivated in Egypt.	Farouk et <i>al</i> . (2015)

15	Improving the production of unsaturated fatty acid esters and flavonoids from date palm pollen and their effects as anti-breast-cancer and antiviral agents: an "in-vitro" study.	Ghanema et <i>al</i> . (2015)
16	Phytochemical constituents and nutrient evaluation of date palm (<i>Phoenix dactylifera</i> , L.) pollen grains.	Al-Samarrai et al. (2016)
17	Phytochemical investigation of <i>Phoenix canariensis</i> Hort. ex Chabaud leaves and pollen grains.	Hifnawy et <i>al</i> . (2016)
18	Pollen viability of Date Palm from different sources in relation to its chemical composition.	Abdel-Satar et Mohamed (2017)
19	Identification of flavonoids in Iraqi Date Palm Pollen by HPLC.	Al-Samarrai et al. (2017)
20	Studies on chemical composition and antimicrobial activities of bioactive molecules from date palm (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) pollens and seeds.	Bentrad et <i>al</i> . (2017)
21	Phytochemical investigation of <i>Phoenix canariensis</i> Hort. ex Chabaud leaves and pollen grains.	Hifnawy et <i>al</i> . (2018)
22	Optimization of conditions <i>for in vitro</i> pollen germination and pollen tube growth of date palm (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).	Mesnoua et <i>al</i> . (2018)
23	Comparative study of pollen grains morphology and phytochemical constituents of some Saudi Arabian Date Palm (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) cultivars.	Abou-Zeid et al. (2019)
24	Evaluation of date palm pollen (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) encapsulation, impact on the nutritional and functional properties of fortified yoghurt.	El-Kholy et <i>al</i> . (2019)
25	Does glycogen synthase kinase-3 β signaling pathway has a significant role in date palm pollen cancer therapy.	Kadry et <i>al</i> . (2019)
26	Metabolites profiling of date palm (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) commercial by-products (pits and pollen) in relation to its antioxidant effect: a multiplex approach of MS and NMR metabolomics.	Otify et <i>al</i> . (2019)



ملخص

تستند هذه الدراسة التحليلية على 26 عملاً (مقالا) منشورًا وتتعلق بوصف وانتخاب حبوب طلع النخيل (... Phoenix dactylifera L.). أخذت عينات حبوب الطلع من 10 نخيل مذكرة ("دكار") بمحطة البرقاجية (المغير). تم تحضير مستخلصات ست عينات من حبوب الطلع باستعمال خليط مائي-إيثانوي بنسبة 80%. بسبب الأزمة الصحية الناجمة عن الوباء الفيروسي (كوفيد -19)، توقف العمل المخبري وعوض بالدراسة التحليلية للبحوث السابقة. يعتمد تقدير المحتويات من البوليفينو لات، الفلافونويدات، البروتينات، السكريات الكلية والمختزلة عن طريق التحديد اللوني باستخدام كاشف فولن-سيوكالتو (Folin-Ciocalteu) من البوليفينو لات، الفلافونويدات، البروتينات، السكريات ومحلول فهلينج على الترتيب. يتم تحديد طبيعة مواد الايض الثانوي بواسطة HPLC يكون اختبار إنبات حبوب الطلع في المختبر عن طريق حساب الحبوب النابتة في وسط الزرع BKM. تتراوح المحتويات بين 20.2 و 21.11 مغ BGP / غ MS لإجمالي البروتينات ومن 4.45 إلى 17.37 إلى 56.40 غ / 100 غ MS لإجمالي البروتينات ومن 4.45 إلى 18.2 فينولية و 3 إلى 6 مركبات فلافونويدية و تتغير إلى 26.25% MS لإجمالي السكريات. كشفت دراسة طبيعة مواد الايض الثانوي عن وجود 4 إلى 10 مركبات فينولية و 3 إلى 6 مركبات فلافونويدية و تتغير حسب الصنف، المنطقة والظروف البيئية. تتراوح نسبة إنبات حبوب الطلع من 45.67 إلى 94.67% في دولتين تمت دراستهما وتؤكد أهمية التحضير الجيد لوسط الزرع يكشف هذا التحليل عن أهمية، غنى وتوع التركيب البيوكيميائي لحبوب طلع النخيل من مناطق مختلفة في العالم.

الكلمات المفتاحية: حبوب الطلع، وصف، انتخاب، البوليفينو لات، الفلافونويدات، البروتينات، السكريات، إنبات في المختبر

Résumé

Cette étude synthétique se base sur 26 travaux publiées et porte sur la caractérisation et la sélection du pollen de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Les grains de pollen sont échantillonnés à partir de 10 « Dokkars » issus de la station d'El Barkajia (El-Meghaier). Six échantillons polliniques sont extraits dans un mélange hydro-éthanoïque à 80%. En raison de la crise sanitaire provoquée par la pandémie virale (covid-19), le travail en laboratoire est interrompu et terminé par une recherche de synthèse. Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes, protéines, sucres totaux et réducteurs sont estimées par dosage colorimétrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu, AlCl3, acide sulfurique, phénol-sulfurique et liqueur de Fehling respectivement. Les identifications des métabolites secondaires sont réalisées par CLHP. Le test de germination *in vitro* est effectué par comptage des grains germés sur milieu BKM. Les teneurs sont comprises entre 0.22 et 211.11 mg EAG/g MS pour les polyphénols totaux; de 0.0613 à 22.25 mg EQ/g MS pour les flavonoïdes totaux; de 17.37 à 56.40 g/100 g MS pour les protéines totales et de 4.45 à 26.25% MS pour les sucres totaux. Les identifications ont mis en évidence la présence de 4 à 10 composés phénoliques et de 3 à 6 flavonoïdes selon le cultivar, la région et les conditions environnementales. Le pourcentage de germination, présente un intervalle allant de 45.67 à 94.67%, pour deux pays étudiés et affirme l'importance du bon paramétrage du milieu de culture. Cette synthèse révèle l'intérêt, la richesse et la variabilité de la composition biochimique des pollens de palmiers dattiers provenant de différentes régions du monde.

Mots Clés: Pollen, Caractérisation, Sélection, Polyphénols, Flavonoïdes, Protéines, Sucres, germination in vitro.

Abstract

This synthetic study is based on 26 published works and relates to the characterization and selection of date palm pollen (*Phoenix dactylifera* L.). The pollen grains are sampled from 10 "Dokkars" at El Barkajia station (El-Meghaier). Six pollen samples are extracted in an 80% hydro-ethanoic mixture. Due to the health crisis caused by the viral pandemic (covid-19), the laboratory work was interrupted and ended with synthetic research. The contents of polyphenols, flavonoids, proteins, total and reducing sugars are estimated by colorimetric determination with the Folin-Ciocalteu reagent, AlCl3, sulfuric acid, phenol-sulfuric and Fehling's liquor respectively. The identifications of the secondary metabolites are carried out by HPLC. The *in vitro* germination test is carried out by counting the grains germinated on MBK solution. The contents are between 0.22 and 211.11 mg EAG / g DM for the total polyphenols; from 0.0613 to 22.25 mg EQ / g DM for the total flavonoids; from 17.37 to 56.40 g / 100 g DM for total proteins and from 4.45 to 26.25% DM for total sugars. Identifications revealed the presence of 4-10 phenolic compounds and 3-6 flavonoids depending on cultivar, region and environmental conditions. The germination percentage has an interval going from 45.67 to 94.67%, for two countries studied and affirms the importance of the correct setting of the culture medium. This synthesis reveals the interest, richness and variability of the biochemical composition of date palm pollens from different regions in the world.

Key words: Pollen, Characterization, Selection, Polyphenols, Flavonoids, Proteins, Sugars, *in vitro* germination.