

Microgreffage du pistachier (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur

A. Chatibi, M.L. Kchouk, A. Mliki et A. Ghorbel
Laboratoire de Biotechnologie Végétale, INRST,
BP 95, 2050 Hammam-Lif., Tunisie

RESUME - *Pistacia vera* L. présente des difficultés de bouturage, de greffage et même de transplantation. De plus, l'entrée en production de cette culture est assez tardive (huit à dix ans). Pourtant, le pistachier possède des facultés d'adaptation variétale peu communes car il supporte divers sols (acides, calcaires, gypseux), de faibles pluviométries et pousse à des altitudes allant du niveau de la mer jusqu'à plus de 1 000 m. C'est une culture assez prometteuse pour les régions arides car elle se substitue aisément à l'amandier et même à l'olivier lorsque ceux-ci sont absents. Cependant, l'extension de la culture du pistachier demeure tributaire de la mise en place de techniques fiables de multiplication et de sélection de nouvelles variétés. La culture *in vitro* du pistachier vrai s'est elle-même heurtée à diverses difficultés, et ce, malgré les récents travaux entrepris au laboratoire qui ont permis de surmonter un grand nombre d'entre elles, et en particulier, de produire massivement le pistachier à partir de cotylédons et de feuilles *in vitro*. Toutefois, les plants ainsi obtenus sont comparables aux plants de semis. Ainsi, afin de produire massivement des plants identiques au cultivar d'origine, nous nous sommes intéressés à la technique de microgreffage *in vitro* et *ex vitro* du cv. Mateur. Les résultats montrent que les pourcentages de succès ont été plus élevés lorsque les greffons proviennent de vitropousses issues d'apex méristématiques *in vitro* et cultivées sur le milieu Zygotique(Ra-Z) contenant 1,0 mg l⁻¹ de BAP, 0,2 mg l⁻¹ AIB et 0,05 mg l⁻¹ ANA. Ces greffons doivent être greffés en fente sur des porte-greffes de 0,2-0,3 cm de diamètre, issus de semis cultivés en serre.

Mots-clés : *Pistacia vera* L., porte-greffe, greffon, greffage *in vitro*, greffage *ex vitro*.

SUMMARY - "Micrografting of pistachio (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur". *Pistacia vera* L. is difficult to propagate by cuttings, to graft and to transplant, besides the fact that it also takes long to produce (eight to ten years). Yet, the crop has uncommon characteristics for varietal adaptation since it grows on unsuitable soils (acidic, calcareous, gypseous), with low rainfall and at various altitudes ranging from sea level up to more than 1,000 m. It is a very promising crop in drylands since it easily replaces almond and even olive trees when these are absent. However, the extension of pistachio culture still depends on reliable techniques for propagation and breeding of new cultivars. *In vitro* culture of true pistachio faces several difficulties despite the recent work undertaken in the laboratory which allowed to overcome many of them and particularly to massively produce *in vitro* pistachio starting from cotyledons and leaves. However, such plants are comparable to seedlings, and, in order to produce plants identical to the original cultivar, we investigated the *in vitro* and *ex vitro* micrografting techniques of the cv. Mateur. So far, results showed that the success rate has been higher when scions were taken on *in vitro*-shoots issued from meristematic apices *in vitro* and cultivated on the media Zygotique(Ra-Z) containing 1.0 mg l⁻¹ BAP, 0.2 mg l⁻¹ IBA and 0.05 mg l⁻¹ NAA. Scions must be cleft grafted on rootstocks, having a diameter of 0.2-0.3 cm, obtained from greenhouse-cultivated seeds.

Key words: *Pistacia vera* L., rootstocks, scions, *in vitro* grafting, *ex vitro* grafting.

Introduction

Le pistachier vrai (*Pistacia vera* L.) est une culture assez difficile à mener car les techniques classiques de bouturage et de greffage se heurtent à une biologie particulière ne permettant pas la réussite totale de ces opérations (Jacquy, 1973). La culture *in vitro* elle-même s'est avérée complexe suite à diverses difficultés de désinfection, d'oxydation des tissus, de maintien des cultures, d'enracinement et par suite de l'acclimatation (Barghchi et Alderson, 1989 ; Chatibi *et al.*, 1995). Les récents travaux ont permis la production massive de plants de pistachier vrai cv. Mateur par culture de cotylédons (Chatibi *et al.*, 1996a) et de feuilles issues d'embryons zygotiques (Chatibi *et al.*, 1996b). Toutefois, en dépit du succès de ces technique *in vitro*, il n'en demeure pas moins que l'obtention massive de plants génotypiquement identiques au cultivar d'origine demeure très délicate.

Le microgreffage est une approche qui permet de résoudre bon nombre de problèmes classiques tels que les incompatibilités greffons/porte-greffes, la sécrétion de substances phénoliques et de résine (Joley et Opitz, 1971 ; Al-Barazi et Schwabe, 1982 ; Sheibani et Villiers, 1995), les reprises lentes et aléatoires des greffons, entraînant une hétérogénéité des arbres greffés surtout lorsqu'il s'agit des porte-greffes issus de semis. Le microgreffage permet également d'augmenter la production par : (i) la production de plantes indemnes de virus (Mosella- Chancel, 1979 ; Vogel *et al.*, 1988 ; Barba, *et al.*, 1989 ; Ben Abdallah *et al.*, 1996) ou (ii) pour la production de têtes de lignées ou de greffons sains utilisés pour la multiplication (Vogel *et al.*, 1988). Il peut également être utilisé pour l'indexage (Bouzid, 1983 ; Tanne *et al.*, 1993) et le contrôle précoce des incompatibilités au greffage (Jonard *et al.*, 1988).

Chez le pistachier (*Pistacia vera* L.), le microgreffage a été jusque-là peu pratiqué (Barghchi et Alderson, 1989 ; Abousalim et Mantell, 1992). Ainsi, cette technique représente à juste titre une alternative supplémentaire à l'extension à grande échelle d'un cultivar donné. Le présent travail rapporte les résultats obtenus lors du microgreffage du pistachier vrai cv. Mateur. Divers facteurs ont été pris en considération notamment l'origine du greffon et du porte-greffe, leur état physiologique, le milieu de multiplication ainsi que la technique de microgreffage proprement dite.

Matériel et méthodes

Les greffons et porte-greffes proviennent tous du pistachier (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur. Les porte-greffes utilisés sont issus de semis cultivés soit *in vitro* soit *ex vitro* en serre contrôlée, tandis que les greffons sont des bourgeons (apicaux ou axillaires) ou des méristèmes obtenus soit sur un pied-mère âgé de quatre ans soit à partir de vitroplants.

Les techniques de microgreffage utilisées (en surface, en fente longitudinale ou en écusson) varient en fonction de l'origine du greffon et du porte-greffe.

Le pH des milieux de culture utilisés est ajusté à 6,5 avant autoclavage par l'addition de KOH (1N). Les plants *in vitro* sont maintenus en chambre de culture à 25±2°C sous une intensité lumineuse de 3 000 lux (≈15 W m⁻²) et une photopériode de 12 h.

Obtention de porte-greffes de semis

In vitro

Des graines collectées en 1993 sont désinfectées selon le protocole décrit par Chatibi *et al.* (1996a,b). Les embryons zygotiques sont débarrassés de cotylédons et cultivés sur le milieu de base de MS (Murashige et Skoog, 1962) dépourvu d'hormones et contenant 15 g l⁻¹ de saccharose et 7 g l⁻¹ d'agar. Au bout de trois semaines de culture, les plantules atteignent 5 à 8 cm de longueur. Elles seront décapitées à 2 cm des racines, en prenant soin d'éliminer tous les bourgeons axillaires, et serviront de porte-greffes : (i) aux apex issus de pied-mères de quatre ans ou (ii) aux apex issus de vitropousses. Le microgreffage est effectué *in vitro* soit en surface soit en écusson (Fig. 1). L'ensemble, greffon et porte-greffe, est cultivé sur un milieu MS contenant 0,3 mg l⁻¹ BAP, 0,1 mg l⁻¹ AIB, 15 g l⁻¹ saccharose et 6 g l⁻¹ agar.

En serre

Les graines maintenues préalablement un mois à 4°C, sont décortiquées puis traitées par une solution fongicide à 1 g l⁻¹ de Rovral pendant une heure. Après 48 h de trempage dans de l'eau distillée stérile, les graines sont traitées une seconde fois au Rovral (0,5 g l⁻¹) et semées sous serre contrôlée dans des gobelets en plastique de 150 ml contenant de la tourbe stérile. Après 4 semaines de culture, des plantules de 10 cm sont développées dont le diamètre des tiges varie entre 0,1 et 0,3 cm. Ces plantules seront décapitées à 4 cm environ des racines et tous les bourgeons situés en dessous de la section seront éliminés. Le microgreffage de bourgeons issus de vitropousses,

elles-mêmes issus de méristèmes, se fera en fente longitudinale pour les bourgeons apicaux et en écusson pour les bourgeons axillaires (Fig. 1).

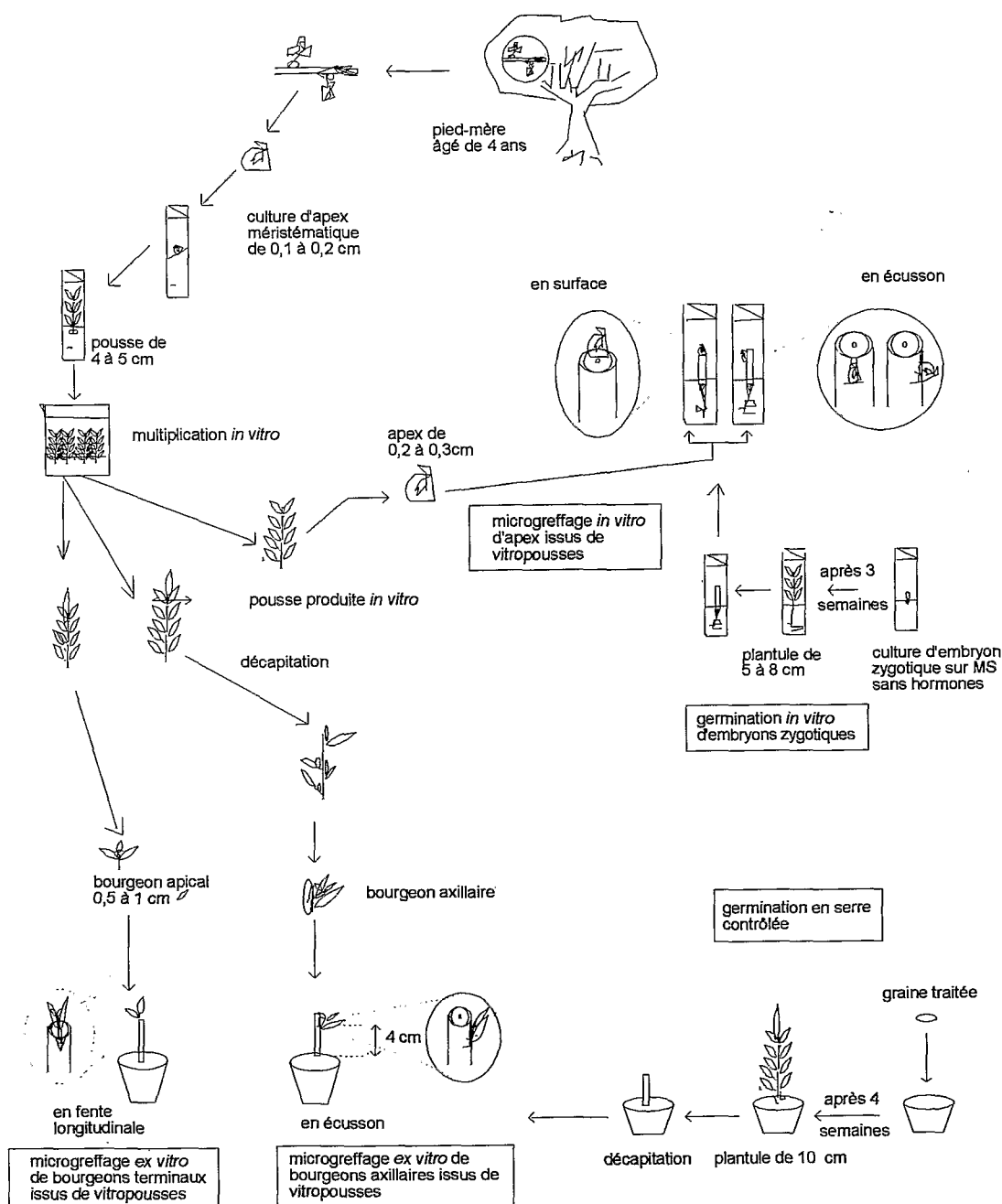


Fig. 1. Microgreffage *in vitro* et *ex vitro* du pistachier (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur.

Prélèvement et culture d'apex méristématiques

Prélèvement d'apex issus du matériel végétal adulte

Après désinfection des boutures (Chatibi *et al.*, 1995), prélevées sur un pied-mère adulte maintenu en verger, des apex méristématiques de 0,1-0,2 cm prélevés aseptiquement sur des bourgeons axillaires sont greffés directement sur les porte-greffes obtenus *in vitro*. Les apex peuvent être dormants ou en activité physiologique (Fig. 1).

Prélèvement d'apex issus de matériel in vitro

Parallèlement, des apex méristématiques de 0,5-1,0 mm sont cultivés *in vitro* sur un milieu d'initiation à base de MS additionné de 1,0 mg l⁻¹ thiamine-HCl, 50 mg l⁻¹ myoinositol, 40 mg l⁻¹ fer chélaté, 0,5 mg l⁻¹ BA, 0,5 mg l⁻¹ AIB, 0,2 mg l⁻¹ GA₃, 20,0 g l⁻¹ de glucose et 8,0 g l⁻¹ d'agar. Après 9 semaines de culture, les pousses vigoureuses de 4 à 5 cm sont transférées sur trois milieux de multiplication à base de MS, de Zygotic (Ra-Z) (Rangan *et al.*, 1968) et de DKW (McGranahan et Driver, 1987) additionnés chacun de 1,0 mg l⁻¹ BAP, 0,2 mg l⁻¹ AIB et 0,05 mg l⁻¹ ANA. Des apex méristématiques de 0,2-0,3 cm sont ensuite prélevés sur les pousses développées. Ils sont greffés soit en surface soit en écusson, les porte-greffes provenant de la germination des embryons zygotiques cultivés *in vitro* (Fig. 1).

Microgreffage *ex vitro*

Microgreffage de bourgeons terminaux

Les bourgeons terminaux, prélevés sur des pousses produites *in vitro* sur les trois milieux de base utilisés, sont introduits dans une fente longitudinale pratiquée à la surface décapitée du porte-greffe issu de semis en serre. Ensuite, la zone de greffe est ligaturée par du crin végétal *raphia* (*Chamaerops humilis*), traité au préalable par du Rovral à 0,5 g l⁻¹, puis recouverte par de la pâte à modeler (Fig. 1).

Microgreffage des bourgeons axillaires

Ces bourgeons en croissance proviennent des vitropousses débarrassées de leurs bourgeons terminaux et cultivées sur les trois milieux de base riches en BAP (1,5 mg l⁻¹). Après une semaine de culture, les bourgeons axillaires sont isolés, avec les feuilles qui les abritent et une partie de l'écorce, puis introduits soigneusement dans le "T" de l'écusson. La zone de greffe subit ensuite le même traitement décrit précédemment (Fig. 1).

Qu'il s'agisse du greffage en fente ou en écusson, après leur pulvérisation par une solution du fongicide (Rovral) à raison de 0,5 mg l⁻¹, les plantules greffées sont placées en serre sous un tunnel en plastique bien étanche où l'humidité est saturante. La température dans la serre est maintenue à 25±3°C.

Analyse des résultats

La mise au point de la technique du microgreffage a nécessité des tests successifs afin de déterminer : (i) l'influence du mode de greffage *in vitro*, en surface ou en écusson, en partant d'apex méristématiques de vitroplants (Table 1) ; (ii) l'influence de l'origine des greffons sur le microgreffage *in vitro* en écusson (Table 2) ; (iii) l'influence du milieu de multiplication quant au greffage *ex vitro* en écusson (Table 3) ; (iv) l'influence du mode de greffage *ex vitro*, en fente longitudinale ou en écusson, en partant de vitropousses cultivées sur milieu de multiplication Ra-Z (Table 4) et (v) l'influence du diamètre du porte-greffe *ex vitro* quand la greffe est pratiquée en fente longitudinale (Table 5).

Résultats et discussion

Microgreffage *in vitro*

Greffage d'apex méristématiques issus de vitropousses

Les meilleurs pourcentages de réussite du greffage *in vitro* (67-76%, Tables 1 et 2) ont été obtenus avec la greffe en écusson d'apex juvéniles issus de vitropousses. Dans ces conditions, la

croissance des greffons est rapide et 7 à 8 semaines après le greffage, les greffons atteignent 8 à 10 cm de longueur (Fig. 2).

Table 1. Influence des techniques du greffage *in vitro* (apex méristématiques de vitropousses)

Mode de greffage	Nombre de greffes	% Contamination	% Reprise
Surface décapitée	24	0,0	0,0
Ecusson	34	0,0	67,0

Table 2. Influence de l'origine des greffons (microgreffage *in vitro*, greffe en écusson)

Origine des greffons	Nombre de greffes	% Contamination	% Reprise
<i>In vitro</i>	34	0,0	76,0
Verger (dormant)	34	38,0	16,6
Verger (en activité)	24	0,0	0,0

Greffage d'apex méristématiques issus du pied-mère

Le greffage *in vitro* d'apex issus de matériel végétal adulte ne réussit que dans 17% des cas. Ceci pourrait être dû à une incompatibilité entre greffon et porte-greffe qui se manifeste pareillement par une disjonction des greffons qui périssent progressivement suite à une sécrétion intense de substances phénoliques au niveau de la zone de greffe (Martinez, 1979 ; Mosella-Chancel, 1979 ; Bouzid, 1983 ; Jonard, 1986). Cet échec est plus marqué lorsque les apex sont prélevés sur un matériel végétal en pleine activité physiologique. Par contre, lorsque les apex sont dormants, la libération de substances phénoliques est plus réduite et n'entraîne généralement pas la mort du greffon. En outre, dans certains cas, après trois semaines de greffage et au cours de la croissance des cals cicatriciels, les greffons sont rejetés faute d'une bonne soudure avec les porte-greffes. Les plantules obtenues après 8 semaines ne dépassent pas 1,5 à 2,0 cm. Cette observation a été également rapportée par Barghchi et Alderson (1989). Ce résultat rejoint également celui décrit par Bouzid (1983) sur le *Citrus* quant à l'importance du stade juvénile du greffon.

Acclimatation des plantules greffées

Qu'il s'agisse des greffons produits *in vitro* ou ceux issus du matériel végétal adulte dormant, et malgré la réussite du microgreffage, les racines des porte-greffes s'hypertrophient (Fig. 3) en donnant naissance à une callogenèse intense. Ils finissent généralement par se nécroser et aucune reprise n'a été observée sur substrat naturel en serre contrôlée. L'élimination précoce des racines avant greffage, telle que décrite chez la vigne (Benin et Grenan, 1984 ; Ben Abdallah *et al.*, 1996), réduit sensiblement la croissance des greffons. Même après culture sur le milieu rhizogène (Chatibi *et al.*, 1995), l'induction ultérieure de nouvelles racines adventives n'est pas possible.

Le microgreffage ex vitro

L'aspect morphologique et physiologique des greffons varie en fonction du milieu de multiplication utilisé. Ainsi, les pousses multipliées sur milieu de base Ra-Z sont généralement semi-lignifiées et donnent des bourgeons apicaux qui, bien que de taille importante, demeurent en croissance ralentie. De plus, les feuilles sont plutôt cassantes. Ceci offre aux greffons une meilleure résistance au stress pendant et après le greffage *ex vitro*. Au contraire, les pousses cultivées sur les milieux de base MS ou DKW ont une croissance très active et leurs bourgeons apicaux sont très poussants, montrant des

feuilles plus larges, mais toutefois plus fragiles lors du greffage. Les greffons ainsi constitués se déshydratent rapidement dès leur sortie du tube et deviennent très sensibles à l'évapotranspiration.

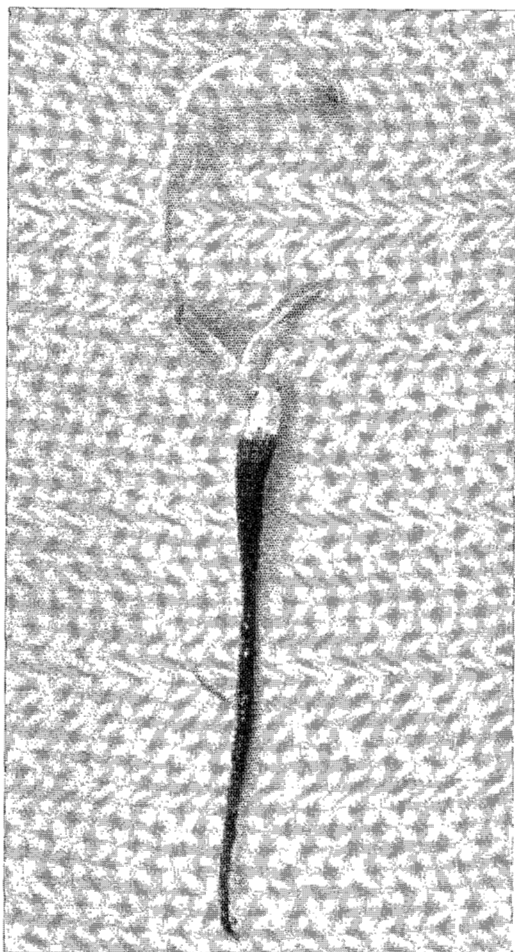


Fig. 2. Microgreffage *in vitro* en écusson d'un apex méristématique sur un porte-greffe obtenu *in vitro*.

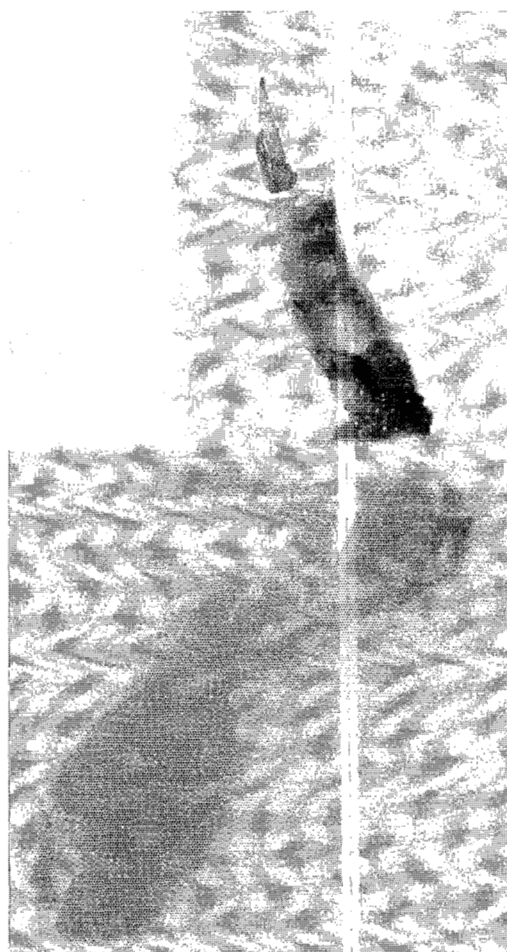


Fig. 3. Hypertrophie de la racine du porte-greffe obtenu *in vitro* après microgreffage.

Par ailleurs, le microgreffage en fente ou en écusson (Figs 4 et 5) donne une reprise importante (60%, Table 4). Toutefois, lorsque la greffe est en écusson, la croissance ultérieure des greffons et la vigueur des plants obtenus sont moins importantes et la cicatrisation demeure le plus souvent incomplète.

En ce qui concerne le diamètre des porte-greffes, nous avons remarqué qu'en dessous de 0,2 cm, la pratique du microgreffage est délicate car elle nécessite des greffons très réduits qui, malheureusement, se nécrosent très rapidement après greffage. Au-delà d'un diamètre de 0,3 cm du porte-greffe, et notamment à 1,0 cm, nous avons observé une incompatibilité accrue entre greffon et porte-greffe, marquée par une sécrétion excessive des substances phénoliques qui inhibent la soudure. De plus, nous avons remarqué que même le taux de contamination durant le microgreffage augmente lorsque le diamètre des porte-greffes est important. De ce fait, les meilleurs pourcentages de reprise sont obtenus lorsque le microgreffage est effectué sur des sujets de 0,2 à 0,3 cm de diamètre. Ainsi, la reprise des greffons issus de vitroplants est meilleure lorsqu'ils sont cultivés sur Ra-Z et greffés en fente longitudinale sur des porte-greffes de 0,2 à 0,3 cm de diamètre (Tables 3, 4 et 5).



Fig. 4. Microgreffage *ex vitro* en fente d'un bourgeon terminal sur un porte-greffe issu de semis.

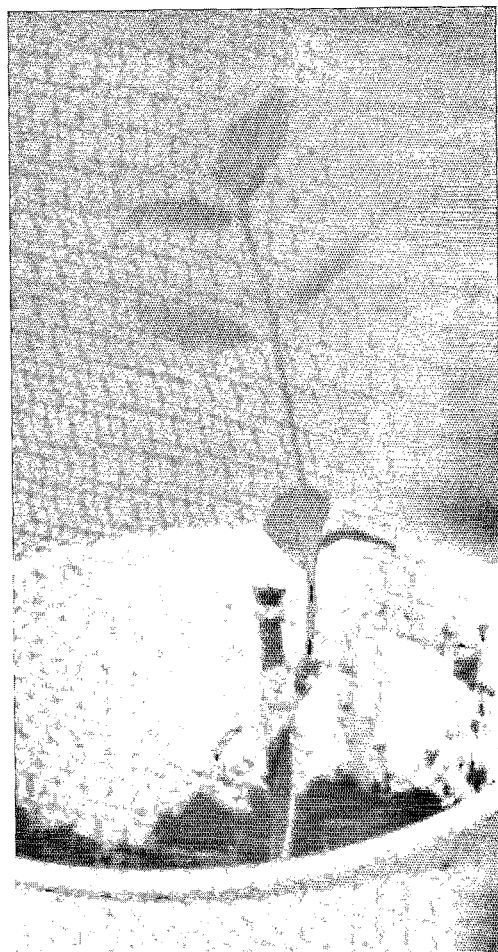


Fig. 5. Microgreffage *ex vitro* en écusson d'un bourgeon axillaire sur un porte-greffe issu de semis.

Table 3. Influence du milieu de multiplication (greffe en écusson en serre)

Milieus de base	Nombre de greffes	% Contamination	% Reprise
MS (1962)	15	44,0	4,1
Ra-Z (1968)	24	21,0	62,5
DKW (1987)	20	30,0	15,6

Table 4. Influence de la technique du greffage *ex vitro* (milieu de multiplication Ra-Z)

Technique du greffage	Nombre de greffes	% Contamination	% Reprise
Fente longitudinale	24	12,0	58,0
Ecusson	24	21,0	67,0

Table 5. Influence du diamètre du porte-greffe *ex vitro* (greffe en fente longitudinale)

Diamètre des porte-greffes (cm)	Nombre de greffes	% Contamination	% Reprise
0,1	30	7,0	17,0
0,2	25	12,0	76,0
0,3	15	7,0	70,0
0,4	30	13,0	27,0
0,5	10	10,0	0,0
0,6	15	17,0	0,0
1,0	8	63,0	0,0

Conclusions

Le microgreffage, à l'inverse du greffage classique, permet au manipulateur de se dégager des contraintes saisonnières et d'accélérer l'établissement de greffes saines. Ceci est d'autant plus intéressant que la technique permet d'obtenir des greffons et des porte-greffes au même stade physiologique, condition *sine qua non* à la réussite de la compatibilité de la greffe chez les espèces ligneuses.

Par microgreffage, nous avons pu obtenir un taux de reprise important qui avoisine les 70% lorsque le greffon est issu de vitropousses produites sur Ra-Z et greffés en fente longitudinale sur des porte-greffes de 0,2 à 0,3 cm de diamètre. Nous avons remarqué que la réussite du microgreffage *in vitro* dépend non seulement de l'âge physiologique des greffons et des porte-greffes mais également de l'époque de prélèvement du greffon sur les pieds-mères adultes et de l'épaisseur du porte-greffe. Le même résultat a été observé dans le genre *Prunus* (Martinez, 1979), chez le pêcher (Poëssel *et al.*, 1980) et chez le pommier (Shu Ching-Huang et Millikan, 1982). Cependant, chez le pommier, les meilleurs résultats ont été obtenus lorsque la plante est en pleine activité physiologique, entre les mois d'avril et de juin, alors que chez le pistachier il est préférable de prélever les greffons sur un matériel adulte dormant.

Par ailleurs, face à l'hétérogénéité des résultats du microgreffage *ex vitro*, liée au diamètre du porte-greffe issu de semis, l'utilisation de vitroplants acclimatés pourrait constituer une meilleure alternative. En effet, après environ quatre semaines d'acclimatation, nous avons constaté que les vitroplants ont généralement un diamètre compris entre 0,2 et 0,4 cm, ce qui représente une condition assez favorable pour la réussite du microgreffage *ex vitro* chez le pistachier cv. Mateur.

Ainsi, l'analyse des résultats relatifs au microgreffage du pistachier vrai a révélé que : (i) l'origine des greffons ; (ii) leur état physiologique ; (iii) le diamètre des porte-greffes et (iv) les milieux de base utilisés pour la multiplication des pousses *in vitro*, jouent un rôle déterminant dans la réussite de la technique du microgreffage du pistachier.

A l'instar de plusieurs arbres fruitiers, tels que le pêcher, le *Citrus* et la vigne, la technique du microgreffage peut intervenir activement dans l'amélioration de la production du pistachier cv. Mateur. Les incertitudes du microgreffage *ex vitro* sur des plantules issues de semis, liées généralement au diamètre des porte-greffes, peuvent être escamotées par la production de porte-greffes homogènes *in vitro*. Ceci est d'autant plus pratique que certaines espèces du genre *Pistacia* utilisées couramment comme porte-greffe, tel que le *Pistacia integerrima*, semblent être plus facile à multiplier *in vitro* que le *Pistacia vera* L. L'obtention de porte-greffes homogènes peut être réalisée soit à partir d'apex méristématiques ou de bourgeons axillaires chez *Pistacia integerrima* (Avanzato *et al.*, 1993 ; Martinelli, 1987), soit encore par la régénération de bourgeons adventifs à partir des cotylédons matures de *Pistacia vera* L. (Chatibi *et al.*, 1996a,b).

Références

- Abousalim, A. et Mantell, S.H. (1992). Micrografting of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Mateur). *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 29 : 231-234.
- Al-Barazi, M. et Schwabe, W. (1982). Rooting softwood cuttings of adult *Pistacia vera* L. *J. Hort. Sci.*, 57(2) : 247-252.
- Avanzato, D., Cherubini, S. et Chacha, C. (1993). Analisi di alcuni fattori che influenzano l'innesto di *Pistacia integerrima* clonato *in vitro*. *Rivista di Frutticoltura*, 12 : 61-65.
- Barba, M., Cupidi, A. et Amminabile, A. (1989). Uso del microinnesto *in vitro* per il risanamento del Mandoro. Dans : *Atti del Convegno Virosi ed Entomofauna del Mandoro*, pp. 155-166.
- Barghchi, M. et Alderson, P.G. (1989). Pistachio (*Pistacia vera* L.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 5, Tree II. Bajaj, Y.P.S. (ed.). pp. 68-98.
- Ben Abdallah, F., Fnayou, A., Grenan, S. et Ghorbel, A. (1996). Contribution à l'amélioration du microgreffage de la vigne. *Bulletin de l'OIV*, No. 785-786(69) : 601-616.
- Benin, M. et Grenan, S. (1984). Le microgreffage : Nouvelle technique d'élimination des virus de la vigne. *Pro. Agri. Viti.*, 2 : 33-36.
- Bouزيد, S. (1983). *Morphogenèse et possibilités nouvelles de multiplication végétative in vitro chez le Citrus*. Thèse de Doctorat Es-Sci. Nat., Fac. Sci. Tunis II, p. 136.
- Chatibi, A., Kchouk, M.L., Ben Abdallah, F., Zemni, H. et Ghorbel, A. (1995). Rooting improvement of *Pistacia vera* L. cv. Mateur by *in vitro* culture of apices and cuttings. *Acta Horticulturae*, 419 : 213-220.
- Chatibi, A., Kchouk, M.L., Mliki, A., Zemni, H. et Ghorbel, A. (1996a). Use of growth regulators for adventitious shoots regeneration and plant propagation from mature cotyledons of pistachio (*Pistacia vera* L.). *Acta Horticulturae*, (soumis).
- Chatibi, A., Kchouk, M.L., Mliki, A. et Ghorbel, A. (1996b). Organogenèse *in vitro* du pistachier (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur. Dans : *X Colloque GREMPA*, Meknès, Maroc, 13-17 octobre 1996.
- Jacqy, P. (1973). *La culture du pistachier en Tunisie*. Projet AGP FAO/TUN/72/003.
- Joley, L.E. et Opitz, K.W. (1971). Further experiences with propagation of *Pistacia*. Combined. Dans : *Proceeding of the International Plant Propagators Society*, 21 : 67-76.
- Jonard, R. (1986). Micrografting and its Applications to Tree Improvement. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 1, Trees I. Bajaj, Y.P. S. (ed.). pp. 31-48.
- Jonard, R., Luckman, D., Schall, F. et Villemur, P. (1988). Essai de contrôle précoce des incompatibilités au greffage chez deux espèces fruitières (abricotier et citronnier), à l'aide de plusieurs techniques de culture *in vitro* : Microgreffage, association d'entre-noeuds, fusion de cals, suspensions cellulaires. *8^{ème} Colloque sur les Recherches Fruitières*, Bordeaux, France, 7-8 décembre, 1988, pp. 239-254.
- Martinelli, A. (1987). *Cloning and propagation of Pistacia integerrima by tissue culture*. California Pistachio Comm. Ann. Rep., pp. 92-93.
- Martinez, J.E. (1979). *Techniques de greffage in vitro d'apex appliquées à l'étude des incompatibilités au greffage chez diverses espèces fruitières du genre Prunus*. Thèse 3^{ème} Cycle, Agron. Phytotech., USTL., Montpellier, p. 151.
- McGranahan, G.H. et Driver, J. (1987). *Cell and Tissue Culture in Forestry*. Bonga, J.B. (ed.). Nijhoff, Dordrecht.

- Mosella-Chancell, L. (1979). Le microgreffage *in vitro* du pêcher (*Prunus persica* Batsch) : Influence de certains composés phénoliques. *CRAS (Série D)*, 289 : 567-570.
- Murashige, T. et Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15 : 473-497.
- Poëssel, J., Martinez, J. et Jonard, R. (1980). Variations saisonnières de l'aptitude du greffage *in vitro* d'apex du pêcher (*Prunus persica* Batsch). Relations avec les teneurs en composés phénoliques endogènes et les activités peroxydasiques et polyphénoloxydasiques. *Physiol. Vég.*, 18 : 665-675.
- Rangan, T.S., Murashige, T. et Bitters, W.P. (1968). *In vitro* initiation of nucellar embryos in monoembryonic *Citrus*. *HortSci.*, 3 : 226-227.
- Sheibani, A. et Villiers, T.A. (1995). Effect of explant type and culture medium on micropropagation of three *Pistacia* species. *Acta Horticulturae*, 419 : 229-232.
- Shu-Ching Huang et Millikan, D.F. (1982). *In vitro* micrografting of apple shoot tips. *J. Hort. Sci.*, 15 : 741-743.
- Tanne, E., Shlamovitz, N. et Spiegel-Roy, P. (1993). Rapidly diagnosing grapevine Corky-Bark by *in vitro* micrografting. *HortSci.*, 28(6) : 667-668.
- Vogel, R., Nicoli, M. et Bove, J.M. (1988). Le microgreffage de méristèmes *in vitro*. Son utilisation en Corse pour la régénération des agrumes. *Fruits*, 43(3) : 167-173.