

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE
L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2013

N° d'ordre : 52



THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Biotechnologies végétales, microbiennes et amélioration des
plantes

Présentée par : Abraham DIEME

**Influence de facteurs exogènes, du calibre et de l'âge physiologique sur
la germination de microtubercules de pomme de terre (*Solanum
tuberosum* L.) et sur le rendement des plants en conditions contrôlées**

Soutenue le 26 octobre 2013 devant le jury composé de :

<u>Président :</u>	M. Kandoura NOBA	Professeur titulaire	UCAD
<u>Rapporteurs :</u>	M. Samba Ndao SYLLA	Professeur titulaire	UCAD
	M. Djibril SANE	Maître de conférences	UCAD
	M. Abdoulaye DIENG	Maître de conférences	UT
<u>Examineurs :</u>	M. Ibrahima NDOYE	Professeur titulaire	UCAD
	Mme Mame Ourèye SY	Maître de conférences	UCAD
<hr/>			
<u>Directeur de thèse :</u>	Mme Mame Ourèye SY	Maître de conférences	UCAD

DEDICACES

Je dédie ce travail,

A ma mère et mon père rappelés à DIEU, pour leurs sacrifices à l'éducation, la réussite et le bonheur de leurs enfants. Que DIEU leurs accorde le paradis éternel. Amen

A mon oncle Gilles et sa femme Yolande pour leur soutien indéfectible et constant, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde affection.

A ma femme Françoise et mes enfants Francine et Joël Bernard pour leur soutien moral et tout l'amour qu'ils me portent.

A mes frères et sœurs pour leurs compréhensions et leurs encouragements, qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A. DIEME

REMERCIEMENTS

Les travaux, rapportés dans cette thèse, ont été entièrement réalisés dans le laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales du Département de Biologie Végétale de la Faculté des Sciences et Techniques de l'UCAD, sous la direction scientifique du Professeur Mame Ourèye SY.

Au terme de cette étude, je remercie avant tout, Dieu tout puissant de m'avoir guidé sur le chemin de la science et m'avoir permis la réalisation de ce présent travail. Sans sa miséricorde et son amour, ce travail n'aurait pas abouti.

*Mes remerciements s'adressent au **Pr Abdoulaye SAMB** et au **Pr Ibrahima NDOYE**, respectivement Directeur de l'Ecole Doctorale et Responsable de la Formation Doctorale « Biotechnologies Végétales, microbiennes et amélioration des plantes », pour avoir autorisé mon admission au sein de l'Ecole Doctorale SEV.*

*Je tiens vivement à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude à mon encadreur **Mme Mame Ourèye SY**, qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, diriger cette étude, tout en faisant preuve d'une grande patience. Ses conseils, ses orientations ainsi que ses qualités humaines et son intérêt portés sur mon sujet de recherche m'ont permis de mener à terme ce projet. Son encadrement était des plus exemplaires.*

*Je suis reconnaissant et exprime toute ma gratitude à **M. Djibril SANE**, Chef du Département de Biologie Végétale, pour m'avoir permis de réaliser cette étude dans le Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales de votre Département.*

*Mes remerciements les plus chaleureux à **M. Kandjouira NOBA**, Professeur titulaire à l'UCAD. Je lui suis très reconnaissant pour sa disponibilité, sa bienveillance et pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury.*

Mes remerciements s'adressent aussi aux autres membres du jury pour avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement de critiquer ce travail. Je suis particulièrement reconnaissant et honoré par leur participation au jury de cette thèse :

- M. Abdoulaye DIENG*
- M. Ibrahima NDOYE*
- M. Samba Ndao SYLLA*
- M. Djibril SANE*

Je tiens à remercier également les enseignants et tout le personnel du département de Biologie Végétale en particulier : Diégane DIOUF, Diaga DIOUF, Léonard AKPO, Mame Samba MBAYE, Aboubacry KANE, Alioune NDIAYE, Sékouna DIATTA, Mme DELGADO et Salif GUEYE

*Je me permets d'adresser mes remerciements au personnel du laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales de l'Université Cheikh Anta Diop, pour son aide et sa grande disponibilité et à **Maurice SAGNA**, technicien du laboratoire pour m'avoir consacré le temps nécessaire et ses conseils durant toute la période de l'expérimentation.*

Je n'oublierai pas de remercier mes collègues de promotion et stagiaires du laboratoire Campus de biotechnologies végétales : Mame Abdou Nahr Sambe, Amar Fall, François Abaye Badiane, Léopold Diatta, Oumar Bâ, Mahamadou Thiam, Aly Diallo, Amy Bodian, Norliette Zossou, Made Diouf, Alassane Benga et Anna Yacine Gueye.

Je fais une mention spéciale à Amadou Lamine N'doye, pour la réalisation des clichés photographiques de ce mémoire.

Enfin, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les concessions et les encouragements de mon épouse, mes parents et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à sa réalisation. Je leur dis tout simplement merci.

A. DIEME

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
ECOLE DOCTORALE : Sciences de Vie, de la Santé et de l'Environnement
FACULTE : Sciences et Techniques

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Biotechnologies Végétales et Microbiennes et Amélioration des Plantes

Nom et prénoms du candidat : DIEME Abraham

Titre de la thèse : Influence de facteurs exogènes, du calibre et de l'âge physiologique sur la germination de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et sur le rendement des plants en conditions contrôlées.

Date et lieu de soutenance : le 26 octobre 2013

Jury :	M. Kandoura NOBA	Professeur titulaire, UCAD	Président
Membres :	M. Samba Ndao SYLLA	Professeur titulaire, UCAD	Rapporteur interne
	M. Djibril SANE	Maître de conférences, UCAD	Rapporteur interne
	M. Abdoulaye DIENG	Maître de conférences, UT	Rapporteur externe
	M. Ibrahima NDOYE	Professeur titulaire, UCAD	Examineur
	Mme. Mame Ourèye SY	Maître de conférences, UCAD	Examineur

Résumé

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est un légume qui occupe le cinquième rang mondial de l'alimentation humaine. Son importance est grandissante dans l'alimentation sénégalaise. Cependant, la production de pomme de terre au Sénégal ne satisfait pas les besoins du marché, ce qui maintient une dépendance vis-à-vis de l'extérieur pour l'approvisionnement en semences de qualité. De plus, ces semences importées ne présentent pas souvent les qualités phytosanitaires requises. La production *in vitro* de microtubercules utilisés comme semence, se présente comme étant l'un des moyens les plus efficaces pour la propagation de matériel de base. Dans cette optique, et pour s'affranchir des contraintes liées à l'approvisionnement et à la disponibilité de semences de pomme de terre ayant un grand pouvoir germinatif, l'influence de facteurs exogènes, du calibre et de l'âge physiologique sur la germination *in vitro* de microtubercules de trois variétés de pomme de terre, a été étudiée. L'incidence du calibre des microtubercules sur le rendement des plants en conditions contrôlées a également été examinée.

Les microtubercules, obtenus sur des miniboutures cultivées *in vitro* dans différents types de milieux MS/2 enrichis en saccharose et complétés ou non en cytokinines, ont été ensemencés stérilement dans le milieu MS(0) et incubés à l'obscurité à différents niveaux thermiques (25, 27 et 30°C). Après incubation, le meilleur taux de germination (100%) est obtenu à 25°C avec les microtubercules de la variété Atlas initialement formés dans le milieu [Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹ de saccharose]. Pour les microtubercules des variétés Aïda et Odessa issus du milieu [Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹ de saccharose], les taux de germination optimaux sont également obtenus à 25°C. Ils sont équivalents respectivement à 100% et 70%. La substitution de la BAP par la coumarine dans le milieu de tubérisation a augmenté significativement le taux de germination à 27°C. Celui-ci a augmenté de 80% à 90%. La température de 25°C a permis une meilleure aptitude à la germination des microtubercules pour toutes les variétés. Quelle que soit la variété considérée, les microtubercules de calibre supérieur à 4 mm sont plus aptes à germer que ceux à calibre inférieur à 4 mm. L'âge physiologique influence également la germination des microtubercules. En effet, la longueur moyenne des germes est plus importante aux stades « germes multiples » et « germes ramifiés » qu'au stade « monogerme » pour toutes les variétés à 25°C.

L'effet du calibre supérieur à 4 mm des microtubercules semés en conditions contrôlées sur le rendement des plants se traduit par une augmentation du ratio, du développement végétatif des plants, mais également du nombre et du calibre des minitubercules récoltés.

Mots clés : *Solanum tuberosum*, microtubercules, germination *in vitro*, saccharose, cytokinines, coumarine, température, calibre, âge physiologique, minitubercules.

ABSTRACT

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is a vegetable that ranks fifth in the world for human food. Its importance is growing in the Senegalese food. However, the production of potatoes in Senegal does not satisfy market needs, what maintains dependence towards the outside for the supply of quality seeds. In addition, these imported seeds often do not match the phytosanitary requirements. *In vitro* production of microtubers used as seed, appears as being one of the most effective means for the propagation of basic plant material. Accordingly, and to overcome the constraints of supply and the availability of seed potatoes with a large germination capacity, the influence of exogenous factors and physiological age on the *in vitro* germination of microtubers from three potato varieties was studied. The impact of the size on microtubers performance of plants under controlled conditions was also examined.

Microtubers obtained on *in vitro* cultivated cuttings introduced in different types of medium MS/2 and enriched with sucrose and supplemented or not in cytokinins, were seeded in sterile MS(0) medium and incubated in darkness at various temperature levels (25, 27 and 30°C). After incubation, the best germination rate (100%) was obtained at 25°C with microtubers of Atlas variety initially formed in the medium [Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP + 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹ sucrose]. For microtubers of Aida and Odessa varieties from the medium [Kin 2.5 mg.L⁻¹ + BAP + 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹ sucrose], optimal germination rates were also obtained at 25°C. They were equivalent to 100% and 70%, respectively. The substitution of BAP by coumarin in the tuberization medium beneficially raised the germination rate at 27°C. This has increased from 80% to 90%. Temperature of 25°C allowed a better ability to germination of microtubers for all varieties. Whatever the considered variety, microtubers with caliber over 4 mm were more likely to germinate than those with caliber under 4 mm. Physiological age influences microtuber germination. In fact, the average length of sprouts was more important at the "multiple sprout" and "branched sprout" stages than at the "monosprout" stage for all varieties, at 25°C.

The effect of the caliber over 4 mm of the seeded microtubers on seedlings performance in controlled conditions, resulted in an increase in the vegetative growth ratio of plants, but also in the number and caliber of harvested minitubers.

Keywords : *Solanum tuberosum*, microtubers, *in vitro* germination, sucrose, cytokinins, coumarin, temperature, caliber, physiological age, minitubers.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABA :	Acide abscissique
ADP :	Acide diphosphorique
BAP :	6-Benzylaminopurique
<i>cf :</i>	<i>confer</i>
cm :	centimètre
Coum :	Coumarine
EDTA :	Ethylène diamine tétra-acétique acide
<i>et al :</i>	<i>et alter</i>
<i>etc :</i>	<i>et caetera</i>
g :	gramme
g.L ⁻¹ :	gramme par Litre
GA ₃ :	Acide gibbérellique
HgCl ₂ :	Bichlorure mercurique
<i>i.e. :</i>	<i>id est</i>
Kg :	kilogramme
Kin :	Kinétine
Km :	kilomètre
mg.L ⁻¹ :	milligramme par Litre
ml :	millilitre
min :	minute
mm :	millimètre
pH :	potentiel Hydrogène
s :	seconde
% :	pourcentage
& :	et
°C :	degré Celsius

LISTE DES ACRONYMES ET DES SIGLES

- AAC :** Agriculture et Agro-alimentaire du Canada
- CFA :** Communauté Financière Africaine
- CIP :** Centre International de la Pomme de terre
- FAO :** Food and Agriculture Organization / Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
- FNRAA :** Fonds National pour la Recherche Agricole et Agro-Alimentaire
- FST/BV :** Faculté des Sciences et Techniques / Département de Biologie Végétale
- SPSS :** Statistical Package of Social Science
- UCAD :** Université Cheikh Anta Diop de Dakar

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau 1. Apport nutritionnel moyen de la pomme de terre pour 100 g de matières cuites à l'eau (Anonyme, 2001).....	15
Tableau 2. Résultats de la campagne de production de pomme de terre au Sénégal.....	18
Tableau 3. Protocole de désinfection des germes prélevés sur les minitubercules.....	37
Tableau 4. Composition des différents milieux de culture utilisés pour la microtubérisation des trois variétés de pomme de terre.....	39
Tableau 5. Effets des concentrations en saccharose et des combinaisons hormonales sur la microtubérisation des trois variétés de pomme de terre après 9 semaines d'incubation à 20°C.....	43
Tableau 6. Nombre de microtubercules formés par variété sur différents milieux de tubérisation <i>in vitro</i>	45
Tableau 7. Poids (g) moyen des microtubercules produits par variété sur différents milieux de tubérisation <i>in vitro</i>	46
Tableau 8. Composition des différents milieux de culture utilisés pour le test d'une augmentation de la concentration en coumarine.....	47
Tableau 9. Nombre de microtubercules formés par variété et par milieu après 9 semaines d'incubation à l'obscurité (20°C)	50
Tableau 10. Poids frais total des microtubercules formés par variété et par milieu après 9 semaines d'incubation à l'obscurité (20°C).....	50
Tableau 11. Calibre moyen des microtubercules formés par variété et par milieu après 9 semaines d'incubation à l'obscurité (20°C).....	50
Tableau 12. Effet rémanent des hormones du milieu de tubérisation sur la germination des microtubercules après 8 semaines de culture.....	59
Tableau 13. Influence de l'âge physiologique sur la germination des microtubercules des différentes variétés de calibre ≥ 4 mm et incubés à 25°C	67
Tableau 14. Nombre de minitubercules récoltés par calibre et par variété.....	79

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Evolution de la production mondiale et surfaces cultivées de pomme de terre de 1980 à 2010.....	16
Figure 2. Influence de l'âge physiologique sur le profil de germination des tubercules...	28
Figure 3. Effet du saccharose sur le taux de microtubérisation des variétés Aïda, Atlas et Odessa après 9 semaines d'incubation à 20°C.....	43
Figure 4. Effet du saccharose et des combinaisons hormonales sur la microtubérisation des variétés Aïda, Atlas et Odessa après 9 semaines d'incubation à 20°C.....	44
Figure 5. Effet du saccharose et des combinaisons hormonales à concentration de la coumarine modifiée sur la microtubérisation des variétés Aïda, Atlas et Odessa après 9 semaines d'incubation à 20°C.....	49
Figure 6. Effet rémanent des hormones sur le taux de germination des microtubercules chez les variétés Atlas, Aïda et Odessa après 8 semaines de culture à différentes températures.....	61
Figure 7. Cinétique de la germination des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) formés dans différents milieux de tubérisation..	62
Figure 8. Effet de la température sur la germination des microtubercules des variétés Atlas, Aïda et Odessa de pomme de terre après 8 semaines de culture.....	63
Figure 9. Cinétique de la germination des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) incubés à différentes températures.....	64
Figure 10. Effet du calibre des microtubercules des variétés Atlas, Aïda et Odessa sur la germination après 8 semaines de culture.....	65
Figure 11. Cinétique de la germination des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) de différents calibres à 25°C.....	66
Figure 12. Cinétique de croissance des germes à 25°C des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) à différents stades physiologiques.....	68
Figure 13. Biomasse fraîche aérienne des plants issus des microtubercules à différents calibres.....	76
Figure 14. Effet du calibre sur le nombre moyen de minitubercules.....	78
Figure 15. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse fraîche des minitubercules récoltés.....	80

Figure 16. Effet du calibre des microtubercules semés sur le calibre moyen des minitubercules récoltés.....	81
Figure 17. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche aérienne... 82	
Figure 18. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche des minitubercules récoltés.....	82

LISTE DES PLANCHES

Planche 1. Morphologie d'une plante de pomme de terre.....	7
Planche 2. Principaux organes (A) et coupe longitudinale du tubercule de pomme de terre (B)	9
Planche 3. Phases d'incubation du tubercule et courbes de croissance (Soltner 1998)	14
Planche 4. Morphologie des minitubercules de pomme de terre de la variété Atlas en phase de prégermination après 3 semaines d'incubation à 28°C à l'obscurité.....	32
Planche 5. Caractères morpho-agronomiques de la variété Aïda.....	33
Planche 6. Caractères morpho-agronomiques de la variété Atlas.....	34
Planche 7. Caractères morpho-agronomiques de la variété Odessa.....	35
Planche 8. Aspect des microboutures mononodales en phase de microtubérisation à l'obscurité à 20°C.....	40
Planche 9. Aspect morphologique des microtubercules des trois variétés de pomme de terre : Aïda (A), Atlas (B) et Odessa (C) formés dans le milieu MS/2 enrichi en saccharose, en cytokinines et/ ou en coumarine après 9 semaines d'incubation à 20°C.....	42
Planche 10. Aspect morphologique des microtubercules après une augmentation de la concentration en coumarine sur le milieu de tubérisation des trois variétés : Aïda (A), Atlas (C) et Odessa (B) à 20°C	48
Planche 11. Aspect morphologique des microtubercules des trois variétés de pomme de terre : (Aïda (A), Atlas (B) et Odessa (C)	51
Planche 12. Aspect des microtubercules introduits sur le milieu de culture MS(0) et incubés à l'obscurité à 25°C.....	57
Planche 13. Germination <i>in vitro</i> des microtubercules dans le milieu MS(0) des différentes variétés : Aïda (A), Atlas (B) et Odessa (C)	60
Planche 14. Aspect morphologique des plants formés à partir des microtubercules (A), des différentes variétés selon le calibre du microtubercule mis à terre (B)....	77
Planche 15. Aspect morphologique des minitubercules des trois variétés récoltés des plants issus des microtubercules de différents calibres (< 4 mm et ≥ 4 mm) après leur fin de cycle.....	79

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Caractères culturaux et d'utilisation de la variété Atlas	A
Annexe 2. Caractères culturaux et d'utilisation de la variété Aïda.....	B
Annexe 3. Caractères culturaux et d'utilisation de la variété Odessa.....	C
Annexe 4. Composition minérale du milieu de culture de Murashige & Skoog (1962)...	D
Annexe 5. Composition des vitamines de Nitsch & Nitsch (1965)	D
Annexe 6. Article sur la microtubérisation de la pomme de terre.....	E
Annexe 7. Article sur les effets résiduels des hormones sur la germination.....	F
Annexe 8. Article sur l'influence de la température, du calibre et de l'âge physiologique sur la germination des microtubercules.....	G
Annexe 9. Communication orale.....	H
Annexe 10. Communications affichées.....	I

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I. GENERALITES SUR LA POMME DE TERRE	4
1. Historique de la pomme de terre.....	4
2. Taxonomie.....	4
3. Description morphologique.....	5
3.1. Description de l'appareil aérien.....	5
3.2. Description de l'appareil souterrain.....	6
3.2.1. Structure externe du tubercule.....	8
3.2.2. Structure interne du tubercule.....	8
4. Cycle de reproduction et physiologie.....	10
4.1. Cycle sexué.....	10
4.2. Cycle végétatif.....	10
4.2.1. Repos végétatif du tubercule ou dormance.....	11
4.2.2. Croissance des germes.....	11
4.2.3. Tubérisation de la plante.....	12
II. INTERET ECONOMIQUE ET PRINCIPALES ZONES DE CULTURES AU SENEGAL	15
III. PROPAGATION DE LA POMME DE TERRE	19
1. Méthodes conventionnelles.....	19
2. Technique d'amélioration de la pomme de terre.....	19
2.1. Micropropagation ou multiplication végétative <i>in vitro</i>	20
2.2. Microtubérisation.....	21
2.2.1. Facteurs intrinsèques.....	22
2.2.2. Facteurs extrinsèques.....	22
2.2.2.1. Facteurs environnementaux.....	22
2.2.2.2. Facteurs nutritionnels.....	23
IV. PHYSIOLOGIE DES MICROTUBERCULES	25
1. Dormance.....	25
2. Facteurs exogènes et germination.....	26
3. Âge physiologique et germination.....	27
4. Rendement des plants.....	30
CHAPITRE II : INFLUENCE DE TRAITEMENTS HORMONAUX ET DU SACCHAROSE SUR LA MICROTUBERISATION DE TROIS VARIETES DE POMME DE TERRE (<i>Solanum tuberosum</i> L.) ADAPTEES AUX CONDITIONS AGROCLIMATIQUES DU SENEGAL	31
INTRODUCTION	31
I. MATERIEL ET METHODES	31

1. Matériel végétal	31
1.1. Caractères descriptifs des génotypes.....	33
1.1.1. Aïda.....	33
1.1.1.1. Caractères agronomiques.....	33
1.1.1.2. Caractères morphologiques.....	33
1.1.2. Atlas.....	34
1.1.2.1. Caractères agronomiques.....	34
1.1.2.2. Caractères morphologiques.....	34
1.1.3. Odessa.....	35
1.1.3.1. Caractères agronomiques.....	35
1.1.3.2. Caractères morphologiques.....	35
2. Méthodes	36
2.1. Prégermination des minitubercules.....	36
2.1.1. Désinfection.....	36
2.1.2. Mise en culture.....	37
2.2. Micropropagation <i>in vitro</i>	37
2.2.1. Composition du milieu de culture.....	38
2.2.2. Microbouturage <i>in vitro</i>	38
2.3. Microtubérisation <i>in vitro</i>	39
2.3.1. Composition des milieux de culture et mise en culture	39
3. Analyse statistique des résultats	41
II. RESULTATS	41
1. Influence du saccharose sur la microtubérisation.....	41
2. Effets combinés des cytokinines (Kin + BAP) et du saccharose	44
3. Effet combiné de la kinétine et de la coumarine en présence de saccharose.....	44
4. Effet du milieu de tubérisation sur le nombre et le poids des microtubercules.....	45
4.1. Effet du milieu de tubérisation sur le nombre de microtubercules.....	45
4.2. Effet du milieu de tubérisation sur le poids des microtubercules.....	45
5. Effet combiné de la kinétine et de la coumarine à concentration modifiée.....	46
III. DISCUSSION	52
1. Influence du saccharose sur la microtubérisation.....	52
2. Influence des phytohormones sur la microtubérisation.....	53
3. Effet du milieu de tubérisation sur le nombre et le poids des microtubercules.....	55
IV. CONCLUSION	55
CHAPITRE III : INFLUENCE DES TRAITEMENTS HORMONAUX, DE LA TEMPERATURE, DU CALIBRE ET DE L'AGE PHYSIOLOGIQUE SUR LA GERMINATION DE MICROTUBERCULES DE POMME DE TERRE (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	56
INTRODUCTION	56
I. MATERIEL ET METHODES	57
1. Matériel végétal.....	57
2. Méthodes.....	57

2.1. Mise en culture des microtubercules.....	57
2.2. Analyse statistique.....	58
II. RESULTATS.....	58
1. Effet rémanent des hormones du milieu de tubérisation sur la germination.....	58
2. Effet de la température sur la germination des microtubercules.....	63
3. Effet du calibre sur la germination des microtubercules.....	65
4. Effet de l'âge physiologique des microtubercules sur la germination.....	67
III. DISCUSSION.....	69
1. Effet rémanent des hormones du milieu de tubérisation sur la germination des microtubercules.....	69
2. Effet de la température d'incubation sur la germination des microtubercules.....	70
3. Effet du calibre sur la germination des microtubercules	71
4. Effet de l'âge physiologique sur la germination des microtubercules.....	72
IV. CONCLUSION.....	73
CHAPITRE IV : INFLUENCE DU CALIBRE DES MICROTUBERCULES DE POMME DE TERRE (<i>Solanum tuberosum</i> L.) SUR LE RENDEMENT DES PLANTS EN CONDITIONS CONTRÔLEES.....	75
INTRODUCTION.....	75
I. MATERIEL ET METHODES.....	75
1. Matériel végétal.....	75
2. Méthodes.....	75
3. Analyse statistique.....	76
II. RESULTATS.....	76
1. Influence du calibre des microtubercules semés sur le développement végétatif.....	76
2. Influence du calibre des microtubercules sur le nombre moyen de minitubercules récoltés.....	78
3. Influence du calibre des microtubercules semés sur le poids moyen des minitubercules récoltés.....	80
4. Effet du calibre des microtubercules semés sur le calibre moyen des minitubercules récoltés.....	80
5. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche aérienne.....	81
6. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche des minitubercules récoltés.....	82
III. DISCUSSION.....	83
1. Effet du calibre des microtubercules semés sur le développement végétatif.....	83
2. Effet du calibre des microtubercules semés sur le nombre moyen de minitubercules récoltés.....	83
3. Effet du calibre des microtubercules semés sur le poids et le calibre moyen des minitubercules récoltés.....	84
4. Influence du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche aérienne.....	84

5. Influence du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche des minitubercules récoltés.....	85
IV. CONCLUSION	85
CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES	86
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	89
ANNEXES	100
Annexe 1. Caractères culturaux et d'utilisation de la variété Atlas	A
Annexe 2. Caractères culturaux et d'utilisation de la variété Aïda.....	B
Annexe 3. Caractères culturaux et d'utilisation de la variété Odessa.....	C
Annexe 4. Composition minérale du milieu de culture de Murashige & Skoog (1962)....	D
Annexe 5. Composition des vitamines de Nitsch & Nitsch (1965)	D
Annexe 6. Article sur la microtubérisation de la pomme de terre.....	E
Annexe 7. Article sur les effets résiduels des hormones sur la germination.....	F
Annexe 8. Article sur l'influence de la température, du calibre et de l'âge physiologique sur la germination des microtubercules.....	G
Annexe 9. Communication orale.....	H
Annexe 10. Communications affichées.....	I

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La pomme de terre est originaire des Andes, plus précisément des environs du lac Titicaca. Les conquistadors espagnols, au XVI^{ème} siècle, pensaient amener en Europe de l'or trouvé au Pérou, mais ce qu'ils ramenaient en fait était la pomme de terre. C'est ainsi que l'humble tubercule s'est retrouvé dans nos assiettes. Bien qu'il n'ait pas rencontré un réel succès à son arrivée sur notre continent, il a depuis, largement été introduit et adopté dans les habitudes alimentaires. En termes de consommation, la pomme de terre est la première racine féculente consommée (93,01 g/personne/jour) au niveau mondial avant le manioc, la patate douce et l'igname (Delaplace, 2007). Elle figure parmi les plantes vivrières les plus primordiales du monde. En effet, sa culture est la quatrième plus importante après celle du maïs, du blé et du riz. Ainsi, elle a atteint le chiffre record de 325 millions de tonnes produites en 2010 sur une superficie cultivée d'environ 20,5 millions d'hectares (FAOstat, 2011). D'ailleurs, selon la FAO, sa production devrait encore doubler d'ici 2020. Elle représente aussi une culture lucrative pour beaucoup de pays en développement. Selon la FAO, plus de la moitié de la récolte mondiale est produite par ces pays.

En plus de son importance dans l'alimentation, la pomme de terre est aussi utilisée par voies biotechnologiques dans la production des vaccins contre le diabète et l'hépatite (Arakawa *et al.*, 1999).

La production des pays ouest-africains est négligeable au plan international. Les principaux pays producteurs sont le Nigéria, le Cameroun, le Sénégal, le Mali et la Guinée. A l'exception de quelques échanges frontaliers difficiles à estimer, la production des pays ouest-africains est destinée essentiellement à satisfaire la demande nationale. Les périodes de plantation et de récolte sont relativement homogènes dans la sous-région avec quelques variations d'un pays à l'autre. La pomme de terre étant essentiellement une spéculacion de contre-saison, l'installation de la culture se fait en majorité en novembre et décembre et le gros de la récolte se fait en mars et avril (<http://morgane-en-afrique.over-blog.com/article-27092455.html>).

Au Sénégal, la pomme de terre, dont l'essentiel de la culture se concentre dans la zone des Niayes, est devenue une spéculacion maraîchère importante tant par sa production que par sa consommation. La production nationale de la saison 2011 est estimée à 15000 tonnes sur une superficie de 750 hectares (SES, 2011).

L'importance de la pomme de terre dans le budget des ménages représente au Sénégal moins de 1% des dépenses alimentaires en zone rurale. Contrairement à l'oignon, la pomme de terre ne fait pas partie des habitudes alimentaires des sénégalais. Elle est consommée essentiellement en milieu urbain par les ménages aisés qui veulent varier leur menu. En fait, la pomme de terre a longtemps été un mets méconnu des classes les plus pauvres et peut encore être considérée comme un produit de luxe dans certaines régions, mais cette situation tend à disparaître grâce à sa vulgarisation. Cependant, l'approvisionnement et la disponibilité en semences constituent le principal problème de l'expansion de cette culture. La semence représente le tiers des importations au Sénégal, ce qui pèse lourdement sur la balance commerciale. Ces semences importées ne présentent pas souvent les qualités requises et leur génotype n'est pas toujours conforme à nos conditions édaphoclimatiques. De même la semence peut présenter quelques contaminations vu que celle-ci est très connue pour sa sensibilité à de nombreuses infections virales qui lui sont transmises à chaque génération par le tubercule d'origine et pour lesquelles aucune lutte chimique n'est possible.

Pour faire face à ces problèmes, les microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produits *in vitro* sont actuellement utilisés dans de nombreux secteurs de l'agriculture comme matériel de base pour la recherche (Coleman *et al.*, 2001), la conservation des ressources génétiques et la distribution internationale de génotypes cultivés (Estrada *et al.*, 1986), ainsi que pour les systèmes de certification (Slimmon *et al.*, 1989). Dans la pratique, les gros microtubercules sont préférés parce qu'ils sont faciles à manipuler et qu'ils produisent des plantes vigoureuses (Wiersema *et al.*, 1987). Ils sont aussi moins sujets au dessèchement en conservation. En outre, ils ont une période de dormance courte et un taux de survie élevé lors d'un transfert direct dans le sol (Leclerc *et al.*, 1994) contrairement aux tubercules classiques qui ont un coût nettement plus élevé pour leur transport et leur qualité phytosanitaire.

Les facteurs régissant le processus de microtubérisation, ont fait l'objet de plusieurs travaux. Le saccharose et les régulateurs de croissance semblent stimuler ce processus (Vreugdenhil, 1998 ; Banfalvi *et al.*, 1997), qu'ils soient seuls ou en interaction avec d'autres paramètres tels que, la température (Akita & Takayama, 1994 ; Gopal *et al.*, 1998), la photopériode (Seabrook *et al.*, 1993 ; Pruski *et al.*, 2001), l'intensité lumineuse (Gopal *et al.*, 1997, 1998), la nutrition azotée (Zarabeita *et al.*, 1997) ou la quantité de potassium dans le milieu de culture (Naik & Sarkar, 1998) .

L'objectif général de cette thèse est de contribuer à une meilleure connaissance de la physiologie de la microtubérisation pour une meilleure maîtrise des stades germinatifs du microtubercule, en vue de l'utiliser comme semence à fournir aux producteurs locaux pour une agriculture durable.

Pour atteindre cet objectif général, nous nous sommes fixés comme objectifs spécifiques :

- (i) de produire *in vitro* des microtubercules à partir de vitroplants issus de trois variétés de pomme de terre, adaptées aux conditions édaphoclimatiques du Sénégal ;
- (ii) de caractériser l'influence de différents traitements hormonaux et de la source de carbone sur la production de microtubercules ;
- (iii) de caractériser l'effet résiduel des traitements hormonaux sur la germination *in vitro* des microtubercules ;
- (iv) d'évaluer l'influence de la température, du calibre et de l'âge physiologique sur la germination *in vitro* des microtubercules ;
- (v) et d'évaluer l'impact du calibre des microtubercules sur le rendement en microtubercules et sur les paramètres de croissance des plants en conditions contrôlées.

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont présentés en 3 chapitres. Ils sont précédés par une introduction générale et une synthèse bibliographique et sont suivis d'une conclusion générale et des perspectives.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES SUR LA POMME DE TERRE

1. Historique de la pomme de terre

La Pomme de terre est originaire de la cordillère des Andes dans le sud-ouest de l'Amérique du Sud où son utilisation remonte à environ 8 000 ans. Introduite en Europe vers la fin du XVI^e siècle à la suite de la découverte de l'Amérique par les conquistadors espagnols, elle s'est rapidement diffusée dans le monde et est aujourd'hui cultivée dans plus de 150 pays sous pratiquement toutes les latitudes habitées. file:///C:/Pomme_de_terre_important.htm.

Au Sénégal, la pomme de terre est introduite vers le début du vingtième siècle par les Européens qui cultivent cette plante pour leur alimentation. Ceux-ci la préférant aux tubercules locaux, ont cherché à la cultiver partout où cela était possible. La région des Niayes a toujours été considérée comme la seule où la culture était possible près de Dakar. La production était destinée aux européens. Avec le temps, les Sénégalais ont incorporé ce nouvel aliment dans les sauces et repas de fête.

2. Taxonomie

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est une dicotylédone appartenant à la famille des Solanacées, du genre *Solanum* (Beniest, 1983 ; Rajnchapel-Messai, 1987). Cette famille comprendrait 75 genres (Pursglov, 1977) et plus de 2000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses (Hawkes, 1990 ; Doré *et al.*, 2006). On pensait autrefois que la pomme de terre était issue d'une plante sauvage unique, l'espèce *S. tuberosum*. Dès 1929, les botanistes avaient montré que son origine était plus complexe et que l'on retrouvait, parmi les ancêtres des espèces de pomme de terre cultivées, des plantes sauvages différentes (Rousselle *et al.*, 1992 ; Doré *et al.*, 2006).

Classification

Règne	: <i>Plantae</i>
Embranchement	: Spermatophyta (Angiospermae)
Classe	: Dicotylédones
Ordre	: <i>Tubiflorae</i>
Famille	: <i>Solanaceae</i>
Genre	: <i>Solanum</i>
Espèce	: <i>tuberosum</i>
Nom vernaculaire	: Pomme de terre

La pomme de terre est une plante tétraploïde à 4 lots de douze chromosomes de base ($2n = 4x = 48$) alors que 70% des autres espèces du genre *Solanum* sont des diploïdes ($2n = 2x = 24$). La présence de 4 allèles, pour un même genre, entraîne une très forte hétérozygotie qui provoque une grande variabilité morphogénétique chez les tubercules de cette espèce.

3. Description morphologique

La pomme de terre (Planche 1) est une plante tubéreuse à feuilles caduques, à port dressé, qui peut atteindre un mètre de hauteur, plus ou moins étalé avec l'âge. C'est une plante vivace grâce à ses tubercules, à condition que le climat lui permette de survivre à la saison froide, mais qui est cultivée comme une plante annuelle.

3.1. Description de l'appareil aérien

L'appareil aérien est constitué de plusieurs tiges principales souvent ailées, la plante adopte avec l'âge un port plus ou moins étalé (caractéristique variétale). Les feuilles sont alternes, composées imparipennées et comportent de 7 à 15 grandes folioles latérales primaires flanquées de folioles secondaires, de folioles intercalaires et de foliolules se distinguant par leur mode d'insertion sur le rachis (Rousselle *et al.*, 1996). Les fleurs pentamères, à calice gamosépale, corolle gamopétale et androcée synanthéré ; (Huaman, 1987), dont la couleur et le nombre caractérisent les variétés, sont généralement autogames, mais souvent stériles. Les fruits ou baies qu'elles produisent contiennent des graines dont l'intérêt, nul en culture, est essentiel en programme de sélection et d'amélioration. Comme les

tiges et les feuilles, le fruit contient une quantité significative de solanine, un alcaloïde toxique caractéristique du genre (ENCARTA, 2004).

3.2. Description de l'appareil souterrain

L'appareil souterrain comprend le tubercule mère desséché, les stolons (tiges souterraines diagéotropes) portant éventuellement des tubercules fils dans leur région subapicale ainsi que des racines adventives (Rousselle *et al.*, 1996). Il représente la partie la plus intéressante de la plante puisqu'on y trouve les tubercules qui confèrent à la pomme de terre sa valeur alimentaire. Cultivé pour la consommation, la transformation ou comme semence, le tubercule représente environ 75 à 85 % de la matière sèche totale de la plante (Rousselle *et al.*, 1996).

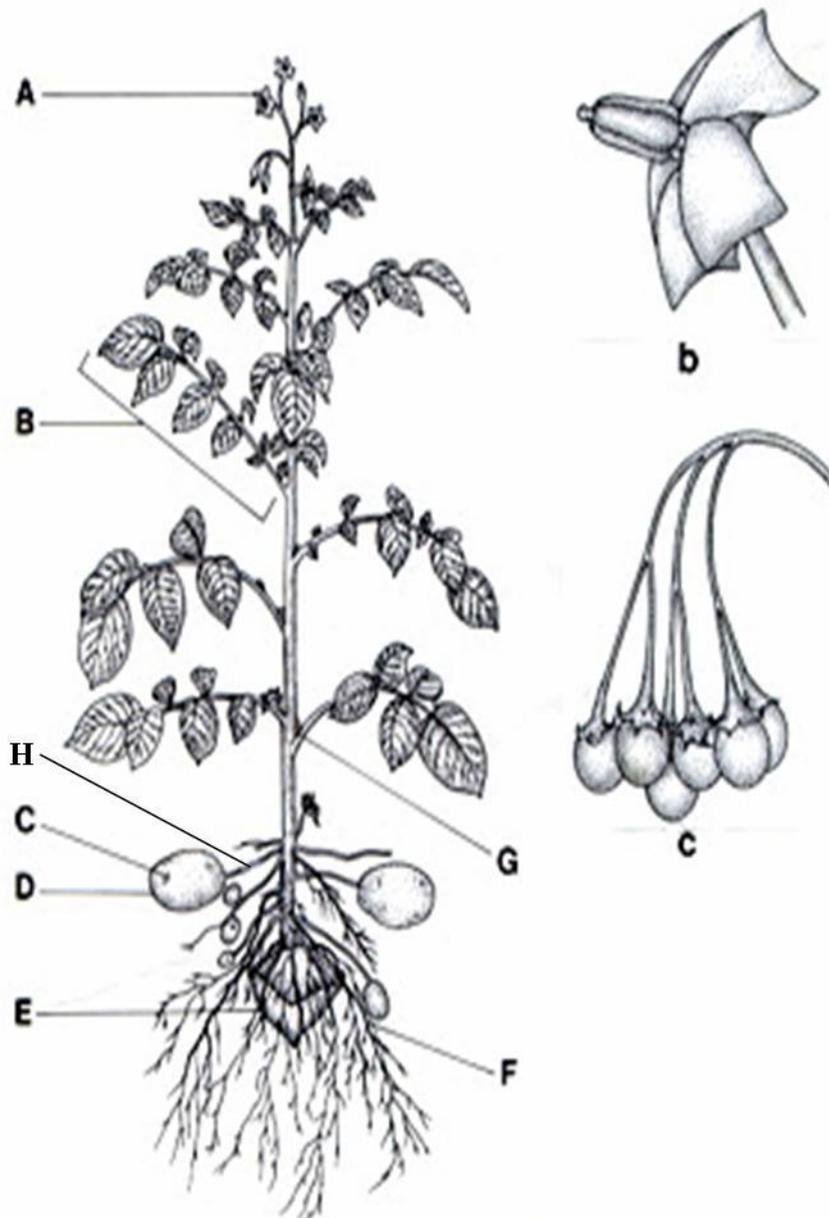


Planche 1. Morphologie d'une plante de pomme de terre.

- A : Inflorescence
- B : Feuille composée
- C : œil (cicatrice de feuille + bourgeon)
- D : Tubercule
- E : Tubercule-mère flétri (ayant donné la plante)
- F : Racine
- G : Tige
- H : Stolon
- b : Fleur
- c : Fruits

3.2.1 Structure externe du tubercule

A l'extrémité apicale du tubercule ou couronne, se trouve le bourgeon terminal ou apical tandis qu'à l'opposé, du côté proximal, se trouve le point d'attache du stolon, l'ombilic. A la surface du tubercule, on observe les « yeux » ou bourgeons dormants qui sont disposés en spirale. Ils sont plus concentrés vers la couronne et se situent à l'aisselle des écailles qui constituent des arcades. La forme du tubercule de pomme de terre est variable ; elle peut être ronde, ovale voire oblongue (Planche 2A). Des lenticelles parcourent la surface du tubercule et jouent un rôle essentiel dans sa respiration (Rousselle *et al.*, 1996).

3.2.2 Structure interne du tubercule

En coupe longitudinale, un tubercule mature (Planche 2B) permet de distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur : le périderme, le cortex ou parenchyme cortical, l'anneau vasculaire composé de phloème externe, de xylème et de parenchyme vasculaire. On remarque également la zone périmédullaire ou parenchyme périmédullaire contenant le phloème interne et enfin, la moelle ou parenchyme médullaire (Rousselle *et al.*, 1996).

Longtemps considéré comme faisant partie du système racinaire, le tubercule de pomme de terre dépend entièrement du système tigellaire dont il n'est, en réalité, que la partie terminale (stolon) s'épaississant par la prodigieuse multiplication des vésicules-mères du tissu cellulaire. Le tubercule se forme donc par hypertrophie des bourgeons terminaux des tiges souterraines du plant de pomme de terre. Il est l'organe principal de réserve de la plante et comporte une forte proportion d'eau, pouvant aller jusqu'à 80%, ainsi que des matières amylacées (la féculé), du sucre, des matières albuminoïdes, des fibres cellulosiques, des éléments minéraux, des diastases, des vitamines (vitamine C, surtout présente dans la peau) et des toxines.

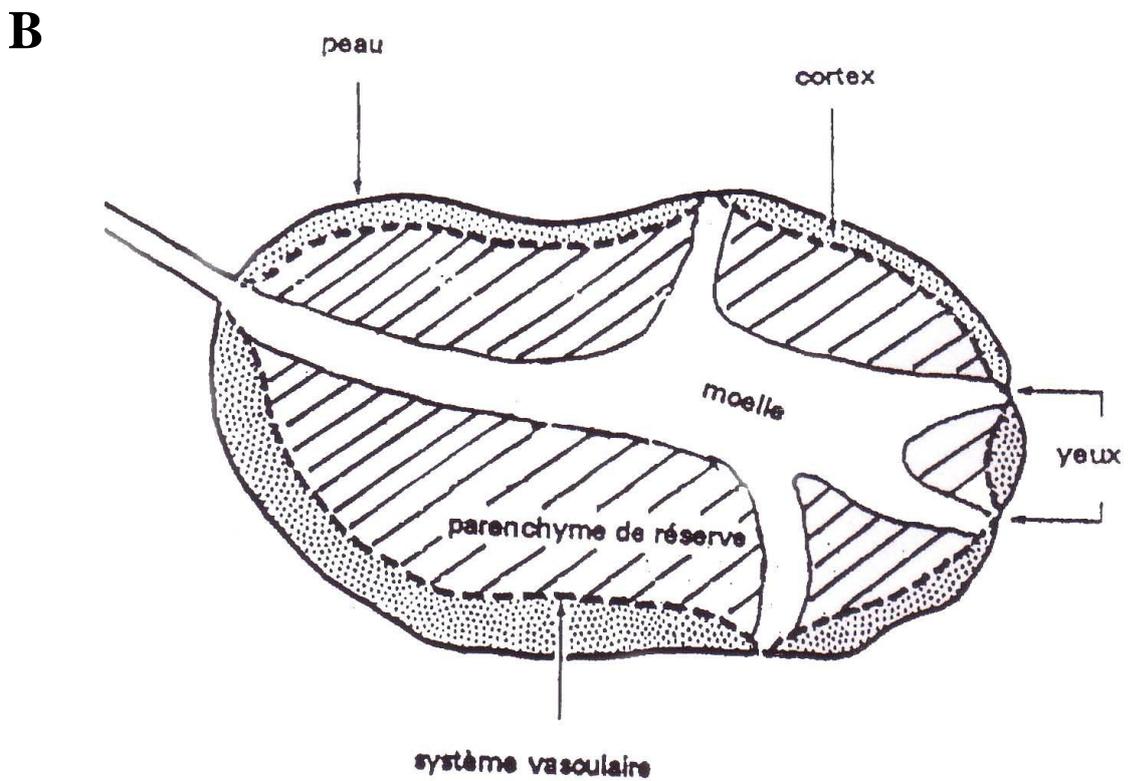
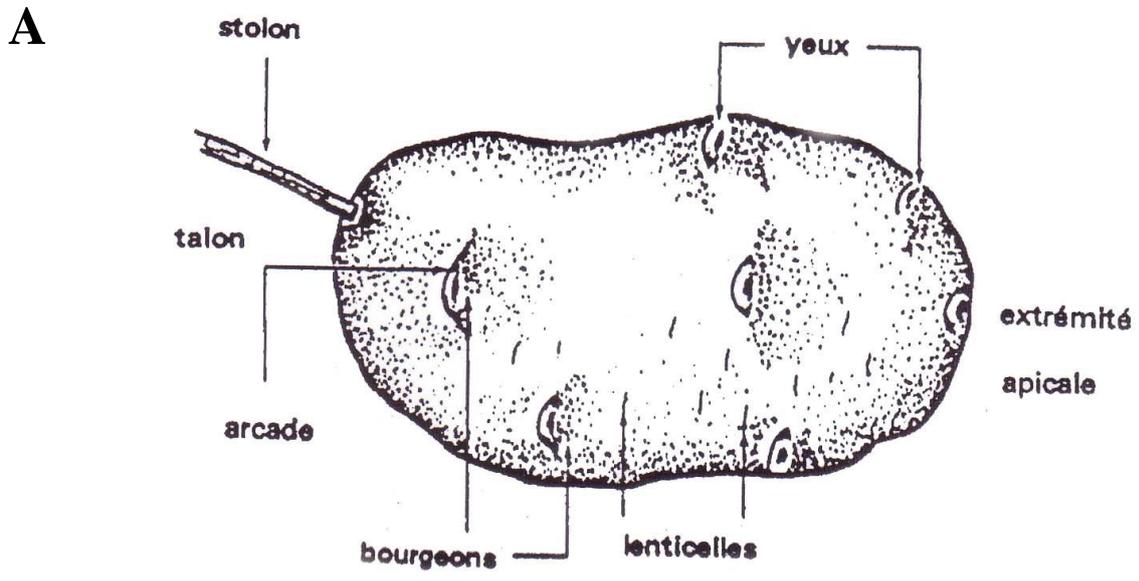


Planche 2. Principaux organes (A) et coupe longitudinale du tubercule de pomme de terre (B) (Rousselle *et al.*, 1996).

4. Cycle de reproduction et physiologie

4.1. Cycle sexué

La pomme de terre peut se reproduire de manière sexuée. Elle produit des fruits, les baies sphériques ou ovoïdes de 1 à 3 centimètres de diamètre, qui contiennent généralement plusieurs dizaines de graines (Bernhards, 1998), pouvant contenir jusqu'à 200 graines (Rousselle *et al.*, 1992). La fructification, jamais abondante voire nulle chez quelques variétés, donne une baie de couleur variant du vert au rouge, suivant les variétés, et blanchissant à la maturité. Les petites graines contenues dans la baie sont plates, ovales et de couleur jaune-ocre. Elles paraissent noyées dans une masse pulpeuse et fortement mucilagineuse. La pomme de terre est très peu reproduite par graines dans la pratique agricole, cependant la graine demeure l'outil de création variétale (Soltner, 2005). La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol par le développement de l'hypocotyle. En conditions favorables, quand la jeune plante a seulement quelques centimètres de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau des cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus, et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules (Bernhards, 1998). La plupart des variétés cultivées, issues de sélection résultent de multiples hybrides. Ainsi, quand elles ne sont pas stériles, elles produisent des graines présentant une très grande hétérogénéité génétique. C'est la raison pour laquelle c'est essentiellement le tubercule, organe de multiplication végétative extrêmement efficace, possédant tous les caractères de la plante-mère qui l'a produit, que l'on utilise comme semence (Rajinchapel-Messaï, 1987).

4.2. Cycle végétatif

Le tubercule de pomme de terre, formé sur la plante-mère, parcourt diverses étapes de développement qui se déroulent successivement jusqu'au moment où il disparaît lui-même en donnant naissance, sur ses germes, à des tubercules-fils (Planche 3). Au cours de ce développement, on distingue trois stades principaux conditionnés par des facteurs génétiques et environnementaux : le repos végétatif du tubercule ou dormance ; la croissance des germes ou germination et enfin la croissance et la tubérisation de la plante.

4.2.1. Repos végétatif du tubercule ou dormance

Cette phase se déroule pendant toute la période du grossissement et un certain temps après la récolte ou à la dégénérescence de la plante-mère. Le tubercule de pomme de terre est incapable de germer, quelles que soient les conditions de température, d'éclairage et d'humidité. C'est la période de dormance ou repos végétatif. Cette période fluctue selon les variétés et les conditions d'entreposage, et surtout selon la température (Peron, 2006). Pour hâter la germination ou lever la dormance, on peut traiter chimiquement les tubercules de semence ou les exposer alternativement à des températures élevées et basses (Kechid, 2005).

4.2.2. Croissance des germes

Selon Ellisseche (2008), lorsqu'un tubercule est placé dans des conditions environnementales favorables (16-20°C, 60-80% d'humidité relative) aussitôt après la fin de son repos végétatif, il commence à germer. Après une évolution physiologique interne les tubercules deviennent capables d'émettre des bourgeons. Une évolution interne du tubercule conduit d'abord à un seul germe qui se développe lentement et dans ce cas c'est toujours le germe issu du bourgeon terminal qui inhibe les autres bourgeons : ce phénomène est la dominance apicale (Soltner, 2005). Le tubercule de semence entier, qui est planté à ce stade de germination, donne un plant qui a très peu de tiges principales. Comme le nombre de tubercules est en grande partie déterminé par le nombre de tiges, on peut prévoir un faible taux de tubercules (Diémé, 2006).

Puis un petit nombre de germes à croissance rapide se développe. Ensuite un nombre de plus en plus élevé de germes démarre, traduisant une perte progressive de la dominance apicale. Ils s'allongent lentement, se ramifient, deviennent filiformes et finalement tubérisent (Bernhards, 1998). Une fois le tubercule mis en terre au stade physiologique adéquat, les germes se transforment en dessous du sol en tiges herbacées pourvues de feuilles ; rendant la plante autotrophe dès que la surface foliaire atteint 300 à 400 cm² (Rousselle *et al.*, 1996). Les bourgeons axillaires donnent au dessus du sol des rameaux, et en dessous, des stolons (Soltner, 2005).

4.2.3. Tubérisation de la plante

Le tubercule est l'intérêt économique de la culture de pomme de terre puisqu'il constitue la partie alimentaire de la plante et en même temps, son organe de propagation le plus fréquent. Ce phénomène de tubérisation commence d'abord par un arrêt d'élongation des stolons après une période de croissance. La tubérisation est réalisée dès que le diamètre des ébauches est le double de celui des stolons qui les portent (Bernhards, 1998) . Outre les processus de multiplication cellulaire, le grossissement des ébauches de tubercules s'effectue par accumulation dans les tissus des substances de réserve synthétisées par le feuillage. Ce grossissement ralentit puis s'arrête au cours de la sénescence du feuillage (Bernhards, 1998). Le modèle de développement suivi par les tubercules varie considérablement entre les tubercules d'une même plante. Une hiérarchie s'établit entre ces organes de stockage qui entrent en compétition pour les nutriments : les tubercules croissant le plus vite limitent le développement des autres tubercules (Verhees, 2002).

Cependant, il arrive que les germes issus du tubercule donnent naissance à des tubercules-fils avant même d'être plantés (boulage). La vitesse de cette évolution physiologique dépend des conditions environnementales subies par le tubercule, en particulier, de la température, au moins après la fin du repos végétatif. Elle est accélérée quand la température de conservation s'élève au moins dans les limites étudiées de 2 à 20°C (Pérennec & Madec 1960). La transformation physiologique, qui conduit du repos végétatif jusqu'à la tubérisation des germes, se réalise au sein des réserves du tubercule et non dans les bourgeons des « yeux » ou dans les germes qui ne font qu'exprimer d'une manière visible la manifestation (Pérennec & Madec 1960).

Des températures basses (2 à 4°C), qui ne permettent pas la croissance, n'empêchent pas non plus cette évolution physiologique, mais la ralentissent. C'est ainsi que des tubercules, conservés pendant plus de 12 mois après la récolte et remis à germer dans les conditions favorables, donnent des germes grêles qui tubérisent presque immédiatement (Pérennec & Madec, 1980). De cette évolution physiologique, qui se déroule progressivement et d'une manière continue et irréversible au sein du tubercule-substrat, découle la notion d'âge physiologique du tubercule (Toosey, 1964 ; Pérennec & Madec, 1980). L'âge physiologique du tubercule à un instant donné de sa vie va dépendre de son âge chronologique et des

conditions de lumière et de température qu'il a subi pendant sa conservation après récolte (Pérennec & Madec, 1980).

L'induction de la tubérisation est sous la dépendance du tubercule-mère et de la plante feuillée à laquelle il a donné naissance ; cette dernière subissant l'influence du milieu (température et photopériode) dans lequel elle croît et se développe. En règle générale, les températures inférieures à 18°C favorisent la tubérisation, alors que les températures élevées (surtout nocturnes) sont favorables à la croissance. Les jours courts (temps d'éclairement limité) sont bénéfiques à la tubérisation ; les jours longs la retardent, voire l'arrêtent complètement. Chaque variété possède une réaction à la photopériode qui lui est propre. On distingue des variétés à "longueur critique de jour" basse et des variétés à "longueur critique de jour" élevé. Les premières (longueur critique de jour < 16 h) sont des variétés tardives qui demandent à être plantées tôt ; les secondes (longueur critique de jour > 16 h) sont des variétés hâtives, ou demi-hâtives, qui peuvent, sans inconvénient, être plantées dans nos régions plus tard, sans voir leur tubérisation ralentie. En plantation trop précoce elles risquent de tubériser très rapidement et de manifester une vigueur végétative assez faible. Température et photopériode interférant constamment, on ne peut définir une photopériode critique qu'en fonction de la température sous laquelle elle a agi.

La tubérisation est commandée par des hormones élaborées dans les feuilles et son début coïncide avec un arrêt de la croissance de la plante. Des études sont aussi menées sur le gène responsable de la tubérisation. Ce génome est un autotétraploïde fortement hétérozygote, ce qui signifie qu'il existe quatre copies de chaque chromosome et que les variations sont considérables parmi les quatre copies de chaque gène. Le génome complet compte ainsi pas moins de 39.000 gènes codants (Salomé, 2011).

Parmi tous ces gènes, ceux qui sont responsables de la tubérisation et de la floraison (respectivement *StSP6A* et *StSP3D*), constituent une avancée majeure pour le contrôle de la croissance du tubercule. L'identification du stimulus, capable d'initier la tubérisation et de la réguler, ouvre la voie au développement d'outils biotechnologiques pour créer ou sélectionner des variétés capables d'activer ces gènes dans des conditions données (Salomé, 2011).

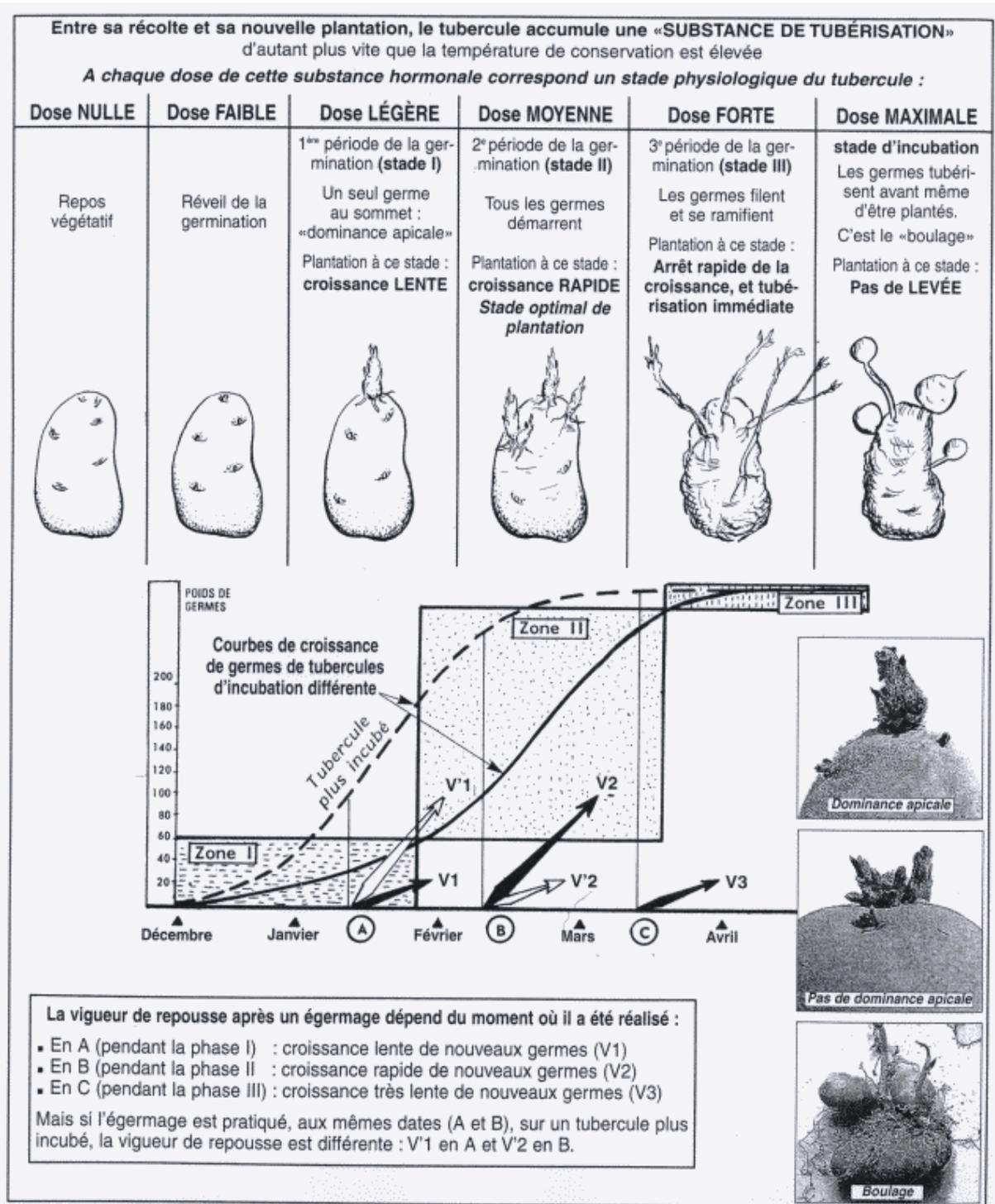


Planche 3. Phases d'incubation du tubercule et courbes de croissance (Soltner, 1998).

II. INTERET ECONOMIQUE, NUTRITIONNEL ET PRINCIPALES ZONES DE CULTURE AU SENEGAL

La pomme de terre est un légume qui occupe le cinquième rang mondial de l'alimentation humaine. Elle fournit au moins 12 vitamines et sels minéraux. Elle est par exemple très riche en vitamine C mais a une teneur assez significative en protéines, hydrates de carbone et en oligo-éléments, comme le fer (Miller & Libschutz, 1984). Elle est également riche en fibres, qui favorisent l'impression de satiété, en vitamines B1, B2, B3 et B6. Elle a une excellente valeur nutritive comparée aux céréales de grande culture (Tableau 1).

Tableau1. Apport nutritionnel moyen de la pomme de terre pour 100 g de matières cuites à l'eau (Anonyme, 2001 ; [www.elboura .ma](http://www.elboura.ma)).

Eléments	Quantités
Valeurs énergétiques	86 Kcal
Glucides	19 g
Protéines	2 g
Lipides	0.1 g
Vitamines	
B1	0.11 mg
B2	0.04 mg
B3	1.2 mg
B6	0.2 mg
C	13 mg
Minéraux	
Potassium	410 mg
Magnésium	27 mg
Fer	0.8 mg
Manganèse	0.17 mg
Cuivre	0.16 mg

La pomme de terre est l'une des plus importantes et des plus populaires cultures à travers le monde (Kashyap & Panda, 2003). Elle est cultivée dans quelques 130 pays. La production mondiale actuelle est d'environ 325 millions de tonnes de tubercules frais pour une superficie cultivée de 18,5 millions d'hectares (Figure 1 : Source FAOstat, 2010). Cette production mondiale de pommes de terre, qui était en augmentation sensible mais constante depuis les années 80, s'est stabilisée depuis le début des années 2000. Si l'on corrèle cela à la forte baisse de la surface mondiale de cultures de pommes de terre de ces 10 dernières années, on peut en conclure que les cultures se sont renforcées sur le plan technique et que, par conséquent, les rendements ont nettement augmenté. Cependant, entre 2009 et 2010, on note une quasi-stabilité des surfaces cultivées (+ 0,25 %) et, dans le même temps, un recul du niveau de production (- 2,3 %).

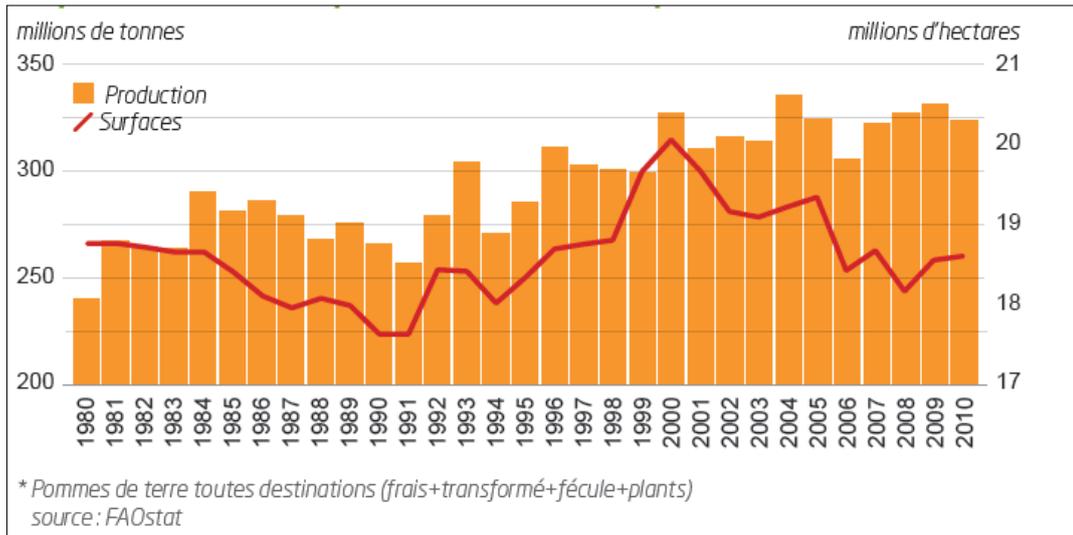


Figure 1. Evolution de la production mondiale et surfaces cultivées de pomme de terre de 1980 à 2010.

Dans les pays en développement la production est passée de moins de 30 millions de tonnes au début des années 60 à plus de 165 millions de tonnes en 2007. En 2005, pour la première fois, la production de la pomme de terre du monde en développement a dépassé celle du monde développé. La Chine est devenue le premier producteur mondial de pommes de terre, et quasiment un tiers de tous les tubercules sont désormais récoltés en Chine et en Inde (FAOstat, 2008).

En Afrique, la pomme de terre est surtout considérée comme un légume saisonnier de valeur supérieure, très apprécié dans les centres urbains où les habitudes alimentaires sont plus fortement influencées par l'Europe que dans les zones rurales. Sa consommation dans les pays subsahariens est estimée à : 10 kg/personne/an dans les pays de l'Afrique de l'Est et 30 kg/personne/an en Afrique Australe (<http://morgane-en-afrique.over-blog.com/article-27092455.html>).

En termes monétaires, la pomme de terre arrive, après le riz, le blé et le maïs, au quatrième rang des cultures vivrières des pays en développement. Ses chiffres de production augmentent plus fortement que ceux des autres aliments en général (Horton, 1987).

En Afrique subsaharienne, la situation se présente de manière tout à fait différente en raison de données agro-écologiques qui ne permettent pas sa production sur une grande échelle. Malgré une période relativement courte de sa production en Afrique, la pomme de terre est néanmoins devenue un facteur économique important dans certains régions agricoles

à altitudes élevées du fait qu'elle procure de bons revenus aux producteurs, qui sont dans la plupart des cas des petits exploitants.

La culture de la pomme de terre offre de bonnes perspectives économiques et sociales : elle contribue à la sécurité alimentaire et à la diversification du régime alimentaire tout en procurant du travail et des revenus aux producteurs locaux. Mais le développement de la filière est freiné par la disponibilité en semences (plants) aux moments opportuns et par leur prix très élevé (souvent plus de 50 % du coût de la culture). Malgré ces contraintes, la pomme de terre peut connaître un essor important car elle est très appréciée et reconnue pour ses qualités nutritionnelles. Egalement, sa culture est aisée, les rendements sont bons (20 à 25 t/ha en saison fraîche) et le marché est porteur pour une production destinée à la vente. Enfin, par rapport aux plantes à tubercules (manioc, igname, patate douce, taro, etc.), la pomme de terre a l'avantage d'offrir le meilleur rendement par jour d'occupation du sol. Son cycle de 100 à 120 jours cadre parfaitement avec la saison fraîche et sèche qui s'étale, dans cette région de l'Afrique, de novembre à mars. Aujourd'hui, plus de 70 000 tonnes de pommes de terre sont récoltées en Afrique de l'Ouest, ceci sur une surface estimée à 4 000 hectares. Compte tenu de l'extraordinaire potentiel de production de la pomme de terre, tous les pays cherchent à le développer car il paraît évident que les seules cultures vivrières traditionnelles ne permettront ni l'autosuffisance ni la sécurité alimentaire et qu'il est impératif de s'appuyer sur d'autres productions alimentaires de base que sont les plantes tubérisées.

Au Sénégal, la pomme de terre est l'un des produits agricoles les plus importants, tant par sa production que par sa consommation. Elle représente 10% environ de la production nationale de légume et près de 50% des importations. La production nationale est estimée à 15 000 tonnes en 2011 ; ce niveau de la production oblige les acteurs à s'orienter vers l'importation de la pomme de terre pour satisfaire à la demande (77 079 tonnes FAOstat, 2009).

La culture de pomme de terre est pratiquée par les habitants de la zone des Niayes, appelée aujourd'hui Grande Côte et qui occupe le littoral sénégalais entre Dakar et Saint-Louis avec environ 180 km de long et 30 à 35 km de large.

L'ensemble des sols de la zone s'est développé sur un manteau sableux quaternaire, dont le relief est très atténué et l'épaisseur variable de 1 à 10 mètres. Sur les anciennes dunes se trouvent des sols Dior, classés dans les sols ferrugineux tropicaux faiblement lessivés. Ce sont des sols assez pauvres en matière organique avec une forte perméabilité. Cependant,

amendés et irrigués correctement, ils constituent un support optimal pour la culture maraîchère.

Le climat dans cette zone est de type tropical subcanarien, dominé par les alizés de l'Atlantique et subissant l'influence marine du courant froid des Canaries. La période fraîche s'y étale sur une période de 6 à 7 mois. La production de la pomme de terre se situe entre le mois de novembre et le mois de mars.

Les Niayes sont subdivisés en trois zones, qui se distinguent par quelques caractéristiques majeures en termes de systèmes de production : Niayes Nord, Niayes Centre et Niayes Sud :

- la zone Nord, qui se situe autour de Potou où les grands producteurs privilégient l'oignon à la pomme de terre (Rao et Gandiol), d'où la faiblesse de la production avec un volume de 570 tonnes en 2010 ;

- la zone Centre est composée de deux sous-zones distinctes : la sous-zone du Centre Nord allant de Lompoul à Mboro où l'exhaure et la distribution manuelle de l'eau dominant ; la sous-zone Centre Sud qui va de Mboro à Notto et qui se caractérise par l'utilisation de l'équipement d'exhaure mécanisée ou motorisée. En terme de résultat la production a atteint 9 280 tonnes en 2010 ;

- la zone Sud s'étend de Notto à la banlieue de Dakar (Cambérène) : sa caractéristique principale est la séparation entre la propriété de la terre qui est devenu un objet de spéculation immobilière et les moyens de production et d'exploitation d'où la faiblesse de la production avec 4 750 tonnes en 2010 (Tableau 2).

Tableau 2. Résultats de la campagne de production de pomme de terre au Sénégal.

SPECULATIONS		Dakar	Thies	Louga	S ^T Louis	Kaolack	Tamba- counda	Fatick	TOTAL
Pomme de terre	Superficie (ha)	250	450	30	20	NA	NA	NA	750
	Production (T)	4750	9280	570	400	NA	NA	NA	15 000

(Source : ANSD (Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie), SES 2011, DHORT)

La majorité de la production se réalise dans les régions de Dakar (31,66%) ; Thiès (61,86%) ; Louga (3,8%) et Saint-Louis (2,66%).

III. PROPAGATION DE LA POMME DE TERRE

Pour assurer la propagation de la pomme de terre, les méthodes conventionnelles et les techniques de culture *in vitro* sont largement utilisées à travers le monde.

1. Méthodes conventionnelles

De nombreuses espèces horticoles sont largement propagées par l'homme en utilisant les techniques classiques de multiplication végétative. En effet, le bouturage, le greffage, le marcottage *etc.* sont des pratiques horticoles bien connues. Cependant, les méthodes habituelles de culture des clones de pomme de terre se heurtent non seulement à des problèmes phytosanitaires (invasion des tubercules par des virus), entraînant une baisse considérable des rendements à cause des infections et de la vitesse considérable d'extension des virus, mais aussi à une lenteur de production des plants et à un coefficient faible de production de tubercules-fils par plant.

L'utilisation aussi de graines de pomme de terre comme semence entraîne une grande diversité génétique au niveau de leur descendance. Pour pallier à ces problèmes d'hétérogénéité, Morel & Müller (1964), Morel *et al.* (1968) et par la suite, Nozeran & Bancilhon (1972) puis Nozeran *et al.* (1977) ont mis au point, pour la pomme de terre, une méthode de multiplication végétative *in vitro*.

2. Technique d'amélioration de la pomme de terre

La multiplication végétative est un mode de reproduction qui se déroule en dehors des phénomènes de sexualité et qui permet la propagation d'individus génétiquement identiques (Robert *et al.*, 1998). Ce phénomène ne fait pas intervenir la méiose, mais un autre processus très strict de division cellulaire, sans remaniement du nombre de chromosomes : la mitose (Maarouf, 2000). La multiplication végétative s'effectue naturellement et artificiellement (Belguendouz, 2012). La pomme de terre est une plante modèle pour l'application des cultures *in vitro* et de toutes les techniques qui en découlent.

2.1. Micropropagation ou multiplication végétative *in vitro*

La multiplication végétative *in vitro* est la biotechnologie végétale la plus ancienne et sa première application à l'agriculture a été la micropropagation de la pomme de terre. Elle a permis d'accélérer la multiplication des variétés-clones, tout en facilitant le maintien d'un bon état sanitaire (Norris, 1954). Autrement dit, le repiquage des explants, dans un environnement de culture aseptique, permet non seulement d'avoir une bonne maîtrise de l'état phytosanitaire des plants mais aussi de travailler avec un matériel initial exempt de virus.

La micropropagation *in vitro* apporte un progrès considérable par rapport aux méthodes traditionnelles avec un taux de multiplication de 100 à 1000 fois plus élevé (Ochatte, 2005). Cette technique ne se limite pas seulement à la pomme de terre, mais aussi la multiplication végétative de plusieurs plantes alimentaires, médicinales, horticoles (Bretaudeau, 2006).

La technique consiste en une prolifération des bourgeons axillaires préexistants sur l'explant mère (Ducreux *et al.*, 1998). Ceci offre une grande garantie de conformité génétique et une bonne stabilité des caractères au cours des repiquages successifs (Zryd *et al.*, 1988). Elle est ainsi employée pour la production de pomme de terre sous forme de semence et pour la collection et la distribution du germoplasme dans le monde entier. A cette fin, des vitroplants indemnes de virus sont utilisés comme produit de départ.

L'analyse moléculaire de la conformité génétique des vitroplants propagés a prouvé que la micropropagation donne des vitroplants génétiquement stables et identiques à l'explant initial (Potter & Jones, 1991).

Les vitroplants de pomme de terre n'exigent généralement pas d'hormones exogènes pour s'enraciner. En fait, ils peuvent être propagés sur un milieu nutritif simple (Vinterhalter *et al.*, 1997).

Plusieurs auteurs ont travaillé sur l'élaboration du milieu de culture le plus efficient pour la culture *in vitro* de cette espèce. En 1962, Murashige & Skoog ont mis au point un milieu de culture considéré jusqu'alors comme le plus efficient pour la multiplication *in vitro* de pomme de terre (Goodwin, 1966). Les résultats de Pennazio & Vecchiati (1976), ayant employé ce milieu enrichi en gibbérelline, auxine et cytokinine à de faibles concentrations, ont permis la prolifération de pousses vigoureuses et bien enracinées. Roca *et al.* (1978) ont obtenu, en

cultivant des apex de tiges sur milieu de Murashige & Skoog (1962) additionné de BAP (0,5 mg.L⁻¹), de GA₃ (0,4 mg.L⁻¹) et d'ANA (0,01 mg.L⁻¹), un coefficient de multiplication (nombre moyen de nœuds obtenus par vitroplants) de 4 en six semaines. Des cultures de fragments de germes des variétés Exton, Kennebec, Pontiac et Sebago, faites sur milieu liquide agité de Murashige & Skoog (1962) additionné de kinétine (0,5 mg.L⁻¹) et de GA₃ (0,1 g.L⁻¹), ont permis à Goodwin & Adisarwanto (1980) d'obtenir des coefficients de multiplication de 10 à 25 en huit semaines.

Endale & Sathyanarayanal (2001) ont montré l'efficacité d'un agent gélifiant sous forme de Tapioca sur la régénération *in vitro* de pousses et la production de microtubercules de pomme de terre. Ce type de gélifiant augmente considérablement *in vitro* les capacités de régénération de la plante. En effet, aussi bien la croissance en hauteur des pousses, le nombre de nœuds ainsi que celui des microtubercules et leur poids frais augmentent considérablement.

D'autres auteurs ont également décrit des méthodes simples de microbouturage *in vitro* (Lê & Collet, 1985 ; Lentini & Earle, 1991 ; Dieng, 1993) après l'amélioration de la multiplication *in vitro* de la pomme de terre par Nozeran & Bancilhon (1972) et Nozeran *et al.* (1977). Il ressort de ses travaux que l'utilisation de miniboutures de pomme de terre comme moyen de propagation, représente un progrès majeur pour la production de matériel de base (Lê, 1991). Mais, le transfert des miniplantes dans un cycle normal de production nécessite un investissement financier consistant et plusieurs cycles de repiquage. Il est donc plus judicieux de mettre au point une technique de propagation par développement de microtubercules *in vitro* afin d'améliorer la qualité des semences d'une part et de rendre plus compétitif l'approvisionnement en matériel de base d'autre part (Lê, 1995).

2.2. Microtubérisation

L'étape d'acclimatation sous forme de plants peut être remplacée par une microtubérisation *in vitro* ou production de vitrotubercules qui est l'un des moyens pratiques le plus efficace pour la propagation de matériel de base, le transport de germoplasme et la conservation des variétés de pomme de terre cultivées après assainissement (Wang & Hu, 1982 ; Lê & Collet, 1988). Elle permet à n'importe quelle période de l'année d'obtenir des semences saines prêtes à être plantées et susceptibles d'être expédiées à grande distance sans

précautions particulières. Leur stockage à basse température (4°C) durant une longue période est aussi possible. De nombreux auteurs ont eu à décrire des méthodes simples et rapides de tubérisation *in vitro* (Ewing, 1985 ; Lavieville, 1991 ; Désiré, 1993 ; Dieng, 1993 ; Levy *et al.*, 1993 ; Charles *et al.*, 1995 ; Lê, 1995) suite aux premiers travaux de tubérisation *in vitro* publiés par Barker en 1953. La microtubérisation est un processus physiologique complexe réglé par deux facteurs intrinsèques et extrinsèques.

2.2.1. Facteurs intrinsèques

Ils correspondent à la physiologie de l'explant végétatif de départ et du génotype.

- **Position de l'explant** : une meilleure tubérisation est observée chez les bourgeons de la partie médiane et basale, par comparaison aux bourgeons apicaux (Charles *et al.*, 1995).

- **Âge physiologique du tubercule-mère** : L'âge physiologique du tubercule-mère peut avoir un effet sur la production des microtubercules. Cela corrobore les travaux de Villafranca *et al.* (1998) et ceux de Vreugdenhil *et al.* (1998) qui ont obtenu des taux de microtubérisation très élevé et une croissance très rapide lorsque le tubercule mère est vieux.

- **Génotype** : Les microtubercules se différencient selon leur taille, leur âge physiologique et leur durée de dormance ; ce qui explique que la microtubérisation est fonction du génotype (Tabori *et al.*, 1999 ; Coleman & Coleman, 2000).

2.2.2. Facteurs extrinsèques

Ce sont les facteurs externes susceptibles de déclencher la tubérisation. Il s'agit en l'occurrence des facteurs environnementaux, nutritionnels et hormonaux.

2.2.2.1. Facteurs environnementaux :

- * **Photopériode** : Lumière et obscurité agissent conjointement par leur durée et leur période d'exposition. Cependant les jours longs (16/8 h ; jour/nuit) induisent une meilleure micropropagation tandis que les jours courts (8/16 h ; jour/nuit) ou l'obscurité provoquent une formation des microtubercules (Charles *et al.*, 1995 ; Coleman & Levy, 1993 ; Belletti *et al.*, 1994).

- * **Lumière** : Il existe deux types de photosensibilité : une photosensibilité positive concernant 70% des semences qui présentent un besoin en lumière ; une photosensibilité négative que l'on retrouve chez 25% des plantes, en particulier chez les liliacées. Les effets de la lumière varient selon les cultivars. Les lumières basses (6 à 12 $\mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), associées à

des courtes photopériodes, augmentent le nombre des yeux des microtubercules (Gopal *et al.*, 1997, 1998).

* **Température** : Selon Leclerc *et al.* (1994) et Akita & Takayama (1994) de faibles températures de l'ordre de 15 à 20°C stimulent la microtubérisation. Une température de 25°C combinée à une concentration de 8% de saccharose donne un meilleur taux de tubérisation (Levy *et al.*, 1993). Les travaux de Palmer & Smith (1970) ont montré que la production de microtubercules est favorisée par des températures allant de 15°C à 20°C et ce, même à l'absence de cytokinines.

Suivant les auteurs, la température optimale de tubérisation se situe à 18°C ou 20°C. Des températures plus élevées diminuent le rendement en perturbant la tubérisation et en provoquant des repousses végétatives. Quant aux très basses températures (inférieures à 4°C), elles inhibent fortement les réactions métaboliques conduisant à la tubérisation de l'espèce.

* **Durée de culture** : Selon Lê & Thomas (2010), durant la phase de tubérisation, il est possible de développer des microtubercules de qualité en termes de poids et de taille. Ainsi, la qualité du matériel produit est encore meilleure lorsque la durée de tubérisation se prolonge au-delà de 16 semaines de culture *in vitro*.

2.2.2.2. Facteurs nutritionnels :

* **Potassium** : Le potassium n'a aucun effet inhibiteur sur le nombre de microtubercules. Par contre il a un effet stimulateur sur la masse et la taille de microtubercules en particulier quand le milieu MS (1 L) contient 40 mL de potassium (Naik & Sarkar, 1998).

* **Saccharose** : Le saccharose intervient dans le processus de la tubérisation en induisant la synthèse de nombreuses protéines comme la patatine ou l'ADP glucose pyrophosphorylose, mais aussi la synthèse de l'amidon qui est influencée par le haut potentiel osmotique dû à l'excès du saccharose (Khuri & Moorby, 1995). Il agit comme un signal pour la régulation du niveau des enzymes impliqués dans ce processus. Les extrémités des germes ont besoin d'un apport énergétique important pour améliorer leur aptitude à tubériser. Donc, de fortes concentrations en sucre sont nécessaires pour l'induction de la tubérisation *in vitro* (Palmer & Smith, 1970 ; Sy, 1997 ; Ndiaye, 2001 ; Diémé, 2006).

Le saccharose induit et active l'expression des gènes responsables de la synthèse de l'amidon et de son accumulation dans les tubercules (Banfalvi *et al.*, 1999). La concentration 80 g.L⁻¹ de saccharose donne un meilleur rendement en microtubercules *i.e* nombre de microtubercules /plante (Diémé *et al.*, 2011 ; Mani *et al.*, 2012) ; Ce résultat confirme les travaux de Sidikou *et al.* (2005) qui montrent que la pomme de terre peut tubériser même avec

une faible dose de saccharose, dès la 1^{ère} semaine et les meilleurs rendements s'observent avec plus de 80 g.L⁻¹ de saccharose par litre de milieu. Le rendement en masse des microtubercules est proportionnel à leur maturité et au pourcentage de saccharose induit dans le milieu. Dans la même optique d'idées Guinazu & Tizio (1990) expliquent que l'absence de saccharose n'arrête pas l'induction de la tubérisation de germes de pomme de terre cultivés *in vitro*, bien qu'il soit indispensable à la réalisation de celle-ci. Le saccharose renforce l'effet retardateur que l'acide gibbérellique exerce sur l'incubation. A leur tour, les petits tubercules développés sur des explants cultivés au préalable dans des milieux dépourvus de saccharose, mais additionnés de gibbérelline, ont montré une période de dormance significativement plus courte que celle des témoins.

* **Régulateurs de croissance** : Les phytohormones jouent un rôle complexe dans le processus, à la fois assurant probablement la transmission des stimuli environnementaux aux différents niveaux de la plante et conditionnant également la réceptivité des tissus et cellules à ces stimuli.

Parmi les multiples activateurs de croissance (gibbérelline, cytokinine, auxines, coumarine, acides phénoliques et éthylène), les cytokinines jouent un rôle majeur en matière d'induction de la tubérisation chez *Solanum tuberosum* L. (Ewing, 1995). Les gibbérellines, les auxines, l'azote, l'éthylène inhibent la tubérisation, tandis que les cytokinines, la coumarine, l'acide abscissique, les acides phénoliques sont des agents stimulateurs (Xu *et al.*, 1998). Certains auteurs estiment que les cytokinines ne sont pas directement responsables de l'initiation des tubercules (Jackson, 1999). Cependant, la BAP élèverait le taux de microtubérisation (Belletti *et al.*, 1994). Sidikou *et al.* (2003) montrent que la combinaison saccharose + cytokinines (BAP) favorise l'induction de la tubérisation. Les travaux de Diémé *et al.* (2011) ont montré que les combinaisons hormonales (BAP + Kinétine) favorisent la tubérisation, mais celle-ci dépend aussi de la variété. Les analyses biochimiques conduites montrent également que les teneurs en protéines solubles totales, saccharose et amidon sont proportionnelles à la quantité de saccharose et de BAP dans le milieu de culture.

Un modèle de développement et de tubérisation synchrone, obtenus à partir d'explants uninodaux de pomme de terre cultivés *in vitro* en absence de régulateur de croissance, a été mis au point par Charles *et al.* (1995) après les travaux de Garner & Blake (1989). Bizarri *et al.* (1995) rapportent que l'addition de charbon actif aux milieux de culture améliore non seulement l'induction de la tubérisation *in vitro*, mais permet aussi d'obtenir des microtubercules de plus gros calibres qui sont produits en plus grande quantité.

IV. PHYSIOLOGIE DES MICROTUBERCULES

La propagation de la pomme de terre peut se faire de façon sexuée ou asexuée. Cependant, comme nous l'avons déjà souligné plus haut, l'utilisation de graines de pomme de terre comme semence entraîne une grande diversité génétique au niveau de leur descendance. Pour pallier à ces problèmes d'hétérogénéité, Morel & Müller (1964), Morel *et al.* (1968) et, par la suite, Nozeran & Bancelhon (1972) puis Nozeran *et al.* (1977) ont mis au point, pour la pomme de terre, une méthode de multiplication végétative *in vitro*. Après la mise au point de cette multiplication, de nombreux travaux ont décrit des méthodes simples de tubérisation *in vitro* (Ewing, 1985 ; Désiré, 1993 ; Charles *et al.*, 1995 ; Lê, 1995). Les microtubercules présentent l'avantage d'une production échelonnée au cours de l'année et leur petite taille facilite leur transport et leur stockage à basse température. Afin d'optimiser l'utilisation des microtubercules pour la culture au champ, il est nécessaire de maîtriser les paramètres physiologiques tels que la dormance, l'âge physiologique et la germination.

1. Dormance

Après la récolte, la plupart des variétés de pomme de terre traversent une période où le tubercule ne germe pas, quelles que soient les conditions de température, d'éclairage et d'humidité. Cela correspond à la période de dormance, et sa durée dépend beaucoup de la variété et des conditions d'entreposage, de la concentration en saccharose et des hormones du milieu de tubérisation, mais surtout de la température. En effet, en augmentant la concentration en saccharose de 80 à 140 g.L⁻¹ lors de la phase de tubérisation, il est possible de réduire de 6 semaines la durée de dormance de microtubercules de la variété Désirée (Désiré *et al.*, 1995b). Van Ittersum (1992) rapporte une diminution de la durée de la dormance de 5 à 8 jours pour des tubercules obtenus à partir de plantes cultivées en champ lorsque de l'azote est ajouté durant la culture. Estrada *et al.* (1986) rapportent que la durée de la dormance est de 60 jours si l'induction de la tubérisation est réalisée en jours courts, mais qu'elle peut atteindre 210 jours si toute la culture est effectuée à l'obscurité.

Chinchilla (1985) montre que la GA₃ réduit la période de dormance et favorise la formation de germes très allongés sur des tubercules classiques. En revanche, Désiré *et al.* (1995a) montrent que la GA₃ ne permet pas de lever la dormance mais simplement de stimuler la germination en fin de période de dormance et une concentration supérieure ou égale à 10⁻⁴ M provoque une augmentation de la taille des plants. En effet, l'acide

gibbérellique ne stimule la croissance des bourgeons qu'au moment où le repos végétatif a pris fin naturellement ou a été levé par l'œilletonnage. Les bourgeons réagissent différemment à un apport de GA₃ selon que les tubercules continuent ou non à être alimentés par la plante-mère ; ceci suggère que les facteurs qui contrôlent la non croissance des bourgeons des tubercules ne soient pas les mêmes avant et après la récolte (Pérennec & Madec, 1968).

La température de conservation intervient sur la dormance du tubercule en raccourcissant cette dernière de quelques semaines. De nombreux travaux ont montré que les basses températures comprises entre 0 et 5°C diminuent la durée de la dormance (Emilson, 1949 ; Allen *et al.*, 1978 ; Harkett, 1981 ; Van Loon, 1983 ; Turnbull & Hanke, 1985). Désiré *et al.* (1995a) ont montré que les fortes concentrations en saccharose (140 g.L⁻¹) et le froid permettent de raccourcir la durée de la dormance des microtubercules. Une conservation à 4°C, avant transfert à 19°C, est également favorable à la germination des microtubercules et ceci quels que soient les temps de tubérisation retenus. Dans tous les cas, plus la durée de conservation à 4°C est importante, plus la germination est rapide et homogène (Désiré *et al.*, 1995a).

2. Facteurs exogènes et germination

Les travaux de Diémé (2006) ont montré que plus la concentration en saccharose du milieu de tubérisation est importante, plus les microtubercules germent rapidement.

L'action des cytokinines du milieu de tubérisation sur la germination a fait l'objet d'évaluation. Elle varie selon le génotype. Ainsi Diémé (2006) montre que l'addition des hormones au milieu de tubérisation favorise la germination chez certaines variétés de pomme de terre. En effet, en ce qui concerne la variété Aïda, l'apport combiné de la kinétine + BAP + 80 g.L⁻¹ de saccharose dans le milieu de tubérisation *in vitro* a permis une germination plus précoce des microtubercules.

Hussey & Stacey (1984) obtiennent une germination immédiate des microtubercules produits en jours longs alors que ceux induits en jours courts et en présence de BAP germent plus lentement et de façon hétérogène. Toutefois, Abbot & Belcher (1986) obtiennent des résultats différents en étudiant les mêmes facteurs.

Pérennec & Madec (1968) suggèrent qu'un traitement à la rindite ou un œilletonnage lève immédiatement et simultanément la dormance des tubercules, indépendamment de leur

âge physiologique. En effet, ce traitement permet une augmentation appréciable de la teneur en acides gras totaux dans la pulpe, enregistrée à 0, 4, 10 et 18°C, dans les premiers mois de conservation. Une chute de la teneur en acides gras totaux de la pulpe a été notée au cours de l'entreposage dans les atmosphères enrichies en CO₂ (20%) ou en O₂ (37%). La rindite provoque donc une synthèse accrue de lipides, surtout dans la période de croissance active des germes (Chérif, 1972).

3. Âge physiologique et germination

Les performances agronomiques des tubercules semences dépendent fortement de leur âge physiologique. Ce paramètre désigne l'état physiologique du tubercule à un moment donné (Reust, 1986 ; Coleman, 2000) et conditionne certaines composantes essentielles du rendement telles que la capacité de cicatrisation des tubercules, le taux de croissance végétatif initial de la culture, le nombre de tiges produites ou la date de tubérisation (Hartmans & Van Loon, 1987 ; Lulai *et al.*, 1994 ; Coleman, 2000). Il dépend, d'une part, de son âge chronologique et, d'autre part, des conditions subies pendant la croissance, la récolte et la conservation. Un tubercule sera d'autant plus âgé que le temps écoulé à partir de sa date de formation aura été long et la température élevée (Burton, 1966 ; Reust, 1982).

Les modèles de croissance suivis par les tubercules de pomme de terre dépendent fortement du processus de vieillissement (Krijthe, 1962 ; Reust, 1982 ; Hartmans & Van Loon, 1987 ; Van der Zaag *et al.*, 1987 ; Fauconnier *et al.*, 2002). Quatre stades définis sur la base morphologique succèdent à la phase de dormance (Figure 2). On distingue le :

- stade « monogerme » : celui-ci est caractérisé par la dominance apicale. De telles « semences » produiront des plantes avec peu de tiges. Un faible nombre de tiges donnera peu de tubercules, mais ceux-ci seront de plus gros calibre (Johnson, 1997) ;

- stade « germes multiples » : des tubercules de ce stade présentent des germinations multiples. Tous les yeux du tubercule sont susceptibles de germer. Ces tubercules produiront des plantes avec plusieurs tiges, ce qui augmentera le nombre de tubercules fils (Johnson, 1997) ;

- stade « germes ramifiés » : ce stade est caractérisé par une ramification importante des germes. Ces derniers sont chétifs et donneront des plantes peu vigoureuses. Celles-ci produiront un grand nombre de tubercules, mais de petit calibre (Johnson, 1997) ;

- stade de formation de tubercules-fils ou boulage : il s'agit d'un stade ultime débutant par l'initiation de tubercules-fils sur les germes et suivi d'une période de grossissement qui

de dure jusqu'à l'épuisement du tubercule-mère (Rousselle *et al.*, 1996). Des tubercules de cet âge physiologique sont inutilisables comme semences (Figure 2 ; Johnson, 1997).

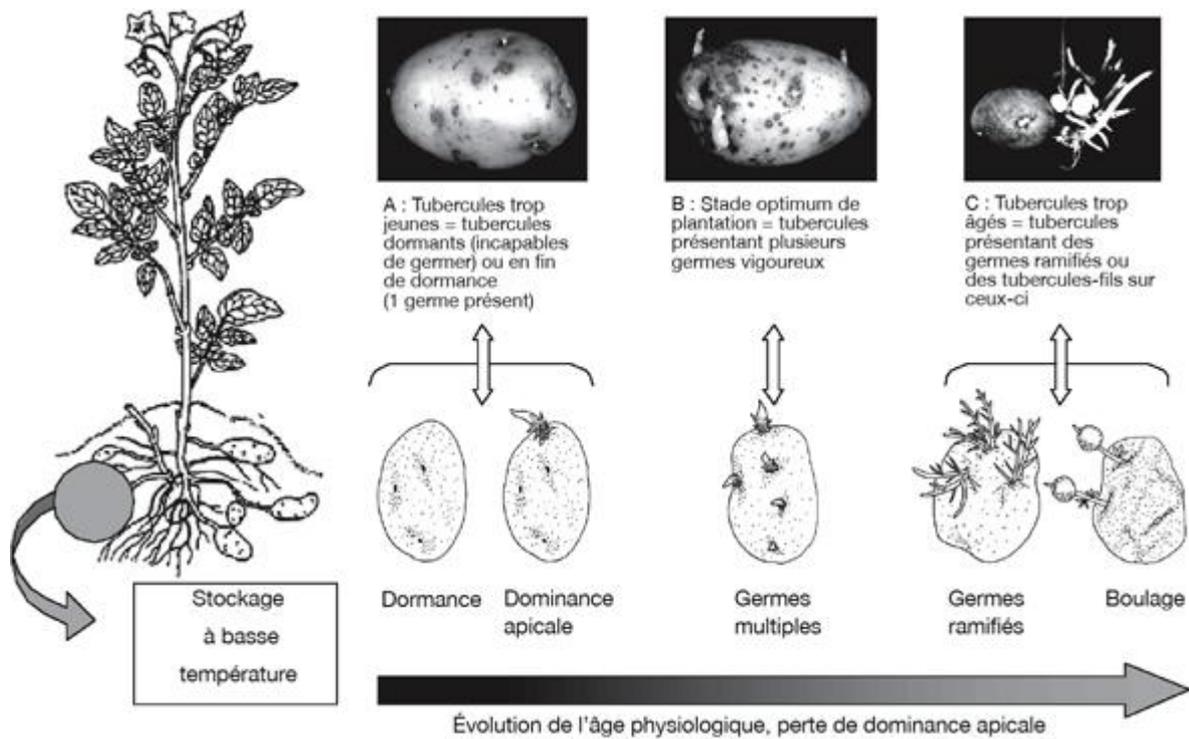


Figure 2. Influence de l'âge physiologique sur le profil de germination des tubercules.

Ce qui est important, c'est que les transformations physiologiques qui conduisent du repos végétatif à la tubérisation des germes, se réalisent au sein des réserves du tubercule et non dans les bourgeons des yeux ou dans les germes qui ne font qu'en exprimer d'une manière visible la manifestation (Madec, 1958 ; Madec & Pérennec, 1968). Elles ne sont non plus une conséquence de la germination conduisant à un épuisement des substances de réserve du tubercule. En effet, elles se font aussi rapidement chez des tubercules dont la croissance des germes est inhibée par diverses substances chimiques, inhibitrices de la germination, que chez des tubercules germant normalement (Madec, 1958 ; Pérennec & Madec, 1960). Des températures basses, de 2 à 4°C, qui ne permettent pas la croissance, n'empêchent pas également cette évolution physiologique, mais la ralentissent (Hogetop, 1930 ; Krijthe, 1958, 1962 ; Pérennec & Madec, 1960). C'est ainsi que des tubercules conservés pendant plus de 12 mois après leur récolte et remis à germer dans des conditions favorables, donnent des germes grêles qui tubérisent presque immédiatement (Hogetop, 1930 ; Krijthe, 1958 ; 1962), c'est-à-dire se trouvent immédiatement placés dans la phase de tubérisation sans avoir préalablement germé.

De cette évolution physiologique, qui se déroule progressivement et d'une manière continue et apparemment irréversible au sein du tubercule-substrat, découle la notion d'âge physiologique. Celui-ci peut se définir, comme l'a fait Toosey (1963, 1964), par l'état physiologique du tubercule à un moment donné de sa vie, ou selon son degré d'incubation comme le préconise Claver (1975). Il s'exprime d'une manière visible par l'influence qu'il exerce à tout instant sur les processus de germination décrits précédemment.

Cette action propre du tubercule-substrat est à distinguer de celle exercée directement par les facteurs du milieu (température et lumière) sur la division et le grandissement des cellules aux points de croissance des germes, bien qu'il ne soit pas toujours possible de les dissocier dans les conditions naturelles de germination.

L'âge physiologique d'un tubercule à un instant donné de sa vie va dépendre de son âge chronologique et des conditions (température et humidité) qu'il a subies au moins pendant sa conservation après la récolte. Un tubercule sera d'autant plus âgé que le temps écoulé mesuré à partir de sa récolte (Kawakami, 1952 ; 1962), ou mieux à partir de sa date de formation sur la plante-mère (Madec & Pérennec, 1956 ; Pérennec & Madec, 1960) aura été plus long. Après la récolte, le vieillissement sera d'autant plus rapide que la température de conservation sera plus élevée (Madec & Pérennec, 1956 ; Pérennec & Madec, 1960).

Des tubercules d'âge physiologique différent peuvent être distingués les uns des autres quand ils sont mis à germer simultanément dans le même milieu. Ces deux conditions doivent nécessairement être réalisées si on veut éviter que l'action directe des facteurs du milieu (température et lumière) sur les germes ne vienne masquer les différences liées à l'âge physiologique des tissus de réserve.

Ainsi chez des tubercules d'âge chronologique différent, un premier départ simultané des germes peut être obtenu après une conservation de la récolte à de basses températures (2-4° C) inhibant toute germination. De même des égermages simultanés, suivis d'une mise en germination dans un même milieu, permettent de comparer, par la croissance de leurs germes, des tubercules d'âge physiologique différent (Pérennec & Madec, 1960).

Vakis (1986) puis Désiré *et al.* (1995c) montrent que plus des tubercules sont âgés physiologiquement, plus la germination est rapide. Lorsque les microtubercules sont physiologiquement jeunes, ils sont soit encore dormants, soit dans une phase de vigueur de

germination peu importante. Ensuite, en vieillissant, leur vigueur germinative augmente et, par conséquent, la germination est accélérée.

4. Rendement des plants

Désiré *et al.* (1995c) rapportent que lorsque le diamètre des microtubercules mis à terre augmente, le rendement global des plants augmente. En effet, lorsque le diamètre augmente, le pool de réserves, en particulier glucidiques, est plus important et pourrait être ainsi plus favorable au développement de la plante et au rendement final. Cependant pour certaines variétés comme Désirée, lorsque le calibre des microtubercules atteint les 9 mm, le nombre total de tubercules récoltés diminue. Le rendement des plants dépend aussi de l'âge physiologique. Ainsi d'après Désiré *et al.* (1995c) le rendement final en tubercules augmente lorsque l'âge des microtubercules est plus important. De même, une augmentation de densité de plantation est favorable au nombre total de tubercules récoltés.

Le temps de conservation des microtubercules au froid (4°C) influence le rendement de ces derniers au champ. Ainsi, selon Désiré *et al.* (1995c) le nombre de tubercules récoltés par m² chez la variété Bintje passe de 250 à 470 puis à 540 pour des microtubercules conservés respectivement pendant 14, 22 et 30 semaines à 4°C. On peut supposer qu'il est même possible d'augmenter ce rendement, puisque 30 semaines ne représentent pas le temps de conservation correspondant à la vigueur de germination maximale, le maximum se situant aux alentours de la 45^{ème} semaine (Désiré, 1993).

CHAPITRE II

INFLUENCE DE TRAITEMENTS HORMONAUX ET DU
SACCHAROSE SUR LA MICROTUBERISATION DE TROIS
VARIETES DE POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum* L.)
ADAPTEES AUX CONDITIONS AGROCLIMATIQUES DU
SENEGAL

CHAPITRE II : INFLUENCE DE TRAITEMENTS HORMONAUX ET DU SACCHAROSE SUR LA MICROTUBERISATION DE TROIS VARIETES DE POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum* L.) ADAPTEES AUX CONDITIONS AGROCLIMATIQUES DU SENEGAL.

INTRODUCTION

La microtubérisation est sous la dépendance des facteurs externes, mais avant tout du génotype. La photopériode est le principal facteur externe, jours courts ou obscurité, qui induit la formation des microtubercules (Charles *et al.*, 1995 ; Coleman & Levy, 1993 ; Belletti *et al.*, 1994).

Au niveau des facteurs nutritionnels, le saccharose intervient dans le processus de la tubérisation en induisant la synthèse de nombreuses protéines comme la patatine ou l'ADP glucose pyrophosphorylase (Jackson, 1999). Il induit et active l'expression des gènes dirigeant la synthèse de l'amidon, et par là même son accumulation dans les tubercules (Banfalvi *et al.*, 1999). Parmi les multiples activateurs de croissance, les cytokinines jouent un rôle majeur dans l'induction de la tubérisation chez *Solanum tuberosum* L. (Ewing, 1995).

Dans ce chapitre, nous avons cherché à provoquer la tubérisation *in vitro* à partir de vitroplants issus de minitubercules de trois génotypes de pomme de terre adaptées aux conditions édaphoclimatiques du Sénégal, puis à caractériser l'impact des variations de concentration en saccharose et en cytokinines sur la microtubérisation.

I. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Le matériel de base est constitué de tubercules Elite appartenant à trois variétés de pomme de terre Aïda, Atlas et Odessa. Les plants ont été importés de GERMICOPA S. A. S (Qimper, France). Ces variétés, choisies sur la base de leur adaptabilité aux conditions agroclimatiques du Sénégal, ont été mises à notre disposition par le projet FNRAA N°09/AP03 M10202 J : « Production et multiplication de semences de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) par vitrométhodes au Sénégal ». Les tubercules-plants sont de calibre 28/35 mm et sont indemnes de virus conformément aux certificats phytosanitaires qui les accompagnaient (Normes de certification ISO 9001). Ces tubercules ont été utilisés pour

obtenir les vitroplants initiaux (Diémé, 2006), mais en ce qui concerne ce présent travail nous avons utilisés les minitubercules issus de l'acclimatation des plants *ex vitro* de ces variétés. (Planche 4)



Planche 4. Morphologie des minitubercules de pomme de terre de la variété Atlas en phase de prégermination après 3 semaines d'incubation à 28°C à l'obscurité. (0,676 cm sur la photo représente une distance réelle de 1cm).

1.1. Caractères descriptifs des géotypes

1.1.1. *Aïda*

Origine génétique : Spunta x Vivaks

1.1.1.1. Caractères agronomiques

Maturité : Variété demi-tardive mais à maturité précoce. Bonne productivité. Régularité dans les résultats.

Tubercules : Oblongs allongés d'aspect jaune pâle.

Maladies : Bonne résistance au Mildiou du feuillage.

1.1.1.2. Caractères morphologiques

Plante : Taille moyenne, port demi-dressé, type intermédiaire ; tiges à pigmentation faible à moyenne ; feuille vert foncé, foliole moyenne à grande, large ; floraison moyennement à fortement abondante ; fleur blanche, bouton floral faiblement pigmenté ; fructification rare.

Tubercules : Oblong allongé, yeux superficiels, peau jaune, chair jaune clair.

Germe : Bleu violacé, conique, pilosité moyenne.

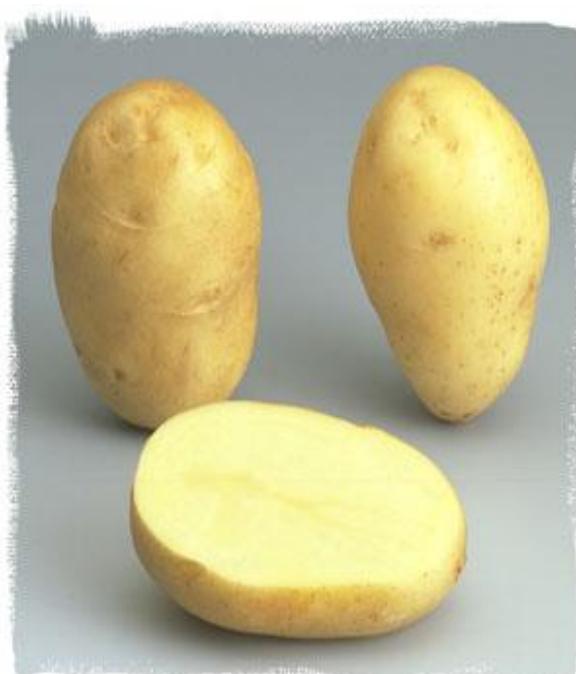


Planche 5. Caractères morfo-agronomiques de la variété Aïda.

1.1.2. Atlas

Origine génétique : Spunta x José

1.1.2.1. Caractères agronomiques

Maturité : Variété relativement tardive ; rendement très élevé ; résultats réguliers même en conditions difficiles.

Tubercules : Très gros calibre, peu nombreux et peu sensibles à l'égermage ; conservation prolongée.

Maladies : Variété sensible aux virus de l'enroulement.

1.1.2.2. Caractères morphologiques

Plante : Taille haute, port dressé, type intermédiaire ; tiges à entrenœuds moyennement pigmentés, nœuds très faiblement pigmentés, aux ailes développées, rectilignes ; Feuille vert foncé, mâte, moyennement divisée, mi-ouverte ; foliole moyenne, ovale arrondi ($I = 1,56$) ; limbe semi-cloqué ; floraison moyenne à très abondante ; fleur blanche, bouton floral partiellement pigmenté ; fructification absente ou très rare.

Tubercules : Oblong, assez régulier, yeux peu profonds à moyens, peau jaune, chair jaune pâle.

Germe : Violet-bleu, conique, pilosité moyenne.



Planche 6. Caractères morpho-agronomiques de la variété Atlas.

1.1.3. *Odessa*

Origine génétique : Vokal x Europa

1.1.3.1. Caractères agronomiques

Maturité : Variété précoce à demi-précoce ; bon rendement à l'hectare.

Tubercules : Oblongs à peau jaune et chair jaune ; aptitude à la conservation moyenne.

Maladies : Variété sensible aux virus X et A mais assez peu sensible au virus Y et moyennement sensible au virus de l'enroulement.

1.1.3.2. Caractères morphologiques

Plante : Taille moyenne à haute, port dressé à demi-dressé, type intermédiaire ; tige à pigmentation nulle ou très faible à faible ; Feuille vert moyen à foncé, semi-brillante, faiblement à très faiblement divisée, semi-ouverte ; foliole moyenne à grande, largeur moyenne à large, ovale ; floraison moyennement abondante à abondante ; fleur blanche, bouton floral pas ou faiblement pigmenté ; fructification moyennement fréquente.

Tubercules : Oblong, yeux peu profonds, peau jaune, chair jaune.

Germe : Rouge violacé, conique, pilosité moyenne.



Planche 7. Caractères morpho-agronomiques de la variété *Odessa*.

2. Méthodes

2.1. Prégermination des minitubercules

La prégermination est l'opération qui consiste à faire pousser des germes sur le minitubercule quelque temps avant leur introduction (Planche 4). Cette technique présente de nombreux avantages chez la pomme de terre. En effet, une prégermination est à l'origine d'une levée uniforme et rapide, d'un meilleur taux d'occupation du sol, d'une augmentation du nombre de tiges, d'un cycle végétatif plus court et de meilleurs rendements (Beniest, 1983).

Ces germes serviront comme matériel de base pour la culture *in vitro*. La prégermination est possible à la fin de la période du repos végétatif ou après la levée artificielle de la dormance des minitubercules. Un prétraitement à l'acide gibbérellique 10^{-2} M permet d'accélérer le débourrement des germes selon la technique de levée artificielle préconisée par Bryan (1990).

Dans le cadre de notre étude, les minitubercules des trois variétés de pomme de terre ont été lavés puis séchés et incubés dans une chambre à l'obscurité pendant 15 jours et à la température ambiante de 28°C pour induire leur prégermination : c'est le débourrement des germes. Les germes obtenus ont servi, après désinfection, de matériel de base pour la multiplication végétative *in vitro*. Les différentes étapes du procédé de désinfection ont été bien décrites par Sy (1997).

2.1.1. Désinfection

Après leur prélèvement à l'aide de scalpel, les germes ont été désinfectés. La désinfection consiste à nettoyer le matériel végétal sans compromettre sa survie dans le milieu de culture. L'objectif est d'éliminer les agents pathogènes présents à la surface des explants de telle sorte que ceux-ci puissent amorcer un développement synchrone et homogène. Le protocole de désinfection est résumé dans le tableau 3.

Tableau 3. Protocole de désinfection des germes prélevés sur les minitubercules.

Solutions en agitation	Durée du traitement
- Lavage au détergent (coto)l	
- Rinçage (3 x H ₂ O) distillée stérile	
- Temps de trempage dans 150 mg.L ⁻¹ d'acide ascorbique +150 mg.L ⁻¹ d'acide citrique	1h
- Temps de trempage HgCl ₂ 1/1000 (+ tween 80 : quelques gouttes)	8 min.
- Rinçage (3 x H ₂ O) distillée stérile	
- Temps de trempage dans de l'eau de javel 8° (dilué de moitié)	15 min.
- Rinçage (3 x H ₂ O) distillée stérile	
- Temps de trempage à l'eau distillée	15 à 20 min.

N.B. Le Tween 80 est un agent mouillant ou surfactant qui augmente le pouvoir de pénétration du désinfectant.

Dès l'application du désinfectant, les opérations se déroulent sous la hotte à flux laminaire pour éviter toute nouvelle contamination du matériel de base.

2.1.2. Mise en culture

La mise en culture se fait sous la hotte à flux laminaire stérile. Les germes ont été découpés en fragments uninodaux comportant chacun un nœud. Chaque fragment uninodal est alors introduit dans un tube contenant 15 ml de milieu nutritif de Murashige & Skoog (1962). Ensuite, les cultures sont placées à l'obscurité pendant 48 h. Par la suite, elles ont été transférées dans un environnement contrôlé où elles reçoivent une photopériode de 16 heures de jour par cycle de 24 heures sous une lumière incidente de 101,4 $\mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Les explants ou microboutures uninodales sont incubés à $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

2.2. Micropropagation *in vitro*

La technique de multiplication *in vitro* consiste à mettre en culture des microboutures mononodales, puis à stimuler le débourrement des bourgeons axillaires et à les faire proliférer tout en maintenant l'intégrité génétique des clones. En effet, il s'agit de régénérer dans de brefs délais et de façon accélérée des milliers de plantes entières conformes génétiquement aux tubercules-mères sélectionnés et de constituer ainsi une population d'individus tous semblables que l'on appelle clone.

2.2.1. Composition du milieu de culture

Dans le but d'assurer une croissance optimale des germes et une néoformation de pousses feuillées à partir des bourgeons axillaires bien développées, nous avons ensemencé les germes de ces trois variétés sur le milieu de Murashige & Skoog (1962) dépourvu de régulateurs de croissance (Annexe 4) et dont les vitamines ont été substituées par les vitamines de Nitsch & Nitsch (1965 Annexe 5).

Le milieu est solidifié à l'agar à raison de 8 g.L^{-1} , le pH est ajusté à 5,8 avec du NaOH (1 N ou 0,1 N). Le milieu est distribué dans des bocaux à raison de 50 ml par bocal. Ces bocaux sont stérilisés à l'autoclave (110°C pendant 20 min).

2.2.2. Microbouturage *in vitro*

Après 29 jours d'incubation, chaque germe a donné naissance à un vitroplant sous forme de pousse feuillée multinodale. Celui-ci a été retiré stérilement du tube et découpé, de manière aseptique, en autant de segments uninodaux qu'il y avait de nœuds (boutures mononodales ou microboutures) selon la technique proposée par Nozeran *et al.* (1977). Le découpage et le transfert dans les bocaux de culture se déroulent également sous une hotte stérile à flux laminaire. Tous les instruments de dissection utilisés en rotation sont régulièrement stérilisés à la flamme précédé d'un trempage à l'alcool 96°C .

Les microboutures comportant chacune un nœud muni d'une petite feuille et d'un bourgeon axillaire, ont été repiquées dans les bocaux, à raison de 10 microboutures par bocal en supprimant l'entrenœud apical pour éviter une perte de vigueur des vitroplants qui se formeront.

Les bocaux sont ensuite incubés dans un environnement climatique qui correspond à une chambre de culture thermostatée à $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ et où ils reçoivent une photopériode de 16 heures de jour et 8 heures d'obscurité par cycle de 24 heures. La lumière incidente est de $101,4 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Au bout de 21 jours d'incubation, les explants ont donné naissance à une jeune pousse feuillée néoformée à partir du bourgeon axillaire. Cette dernière peut comporter 3 à 5 entrenœuds en moyenne selon la variété. Un nouveau découpage de chaque pousse redonnera autant de boutures uninodales à repiquer dans un milieu neuf.

Il convient de limiter le nombre de repiquage *in vitro* à 4 ou 5 cycles pour maintenir la vigueur des vitroplants et éviter subséquentement des phénomènes de dégénérescence (Sy, 1997). Les vitroplants resectionnés en boutures uninodales ont été utilisés pour l'obtention de microtubercules.

2.3. Microtubérisation *in vitro*

La tubérisation *in vitro* est induite par une modification des conditions expérimentales de croissance des boutures, ce qui les oriente vers une tubérisation sur des stolons produits à leur base. La tubérisation est provoquée principalement par le passage à des photopériodes courtes et une réduction des températures d'incubation (15°C-20°C) dans des conditions d'alimentation favorables.

2.3.1. Composition des milieux de culture et mise en culture

Les explants ou boutures mononodales constitués d'une portion de tige, d'un bourgeon axillaire et d'une feuille, sont ensemencés dans le milieu de Murashige & Skoog (1962) dont les macroéléments sont réduits de moitié (MS/2) et en présence de 80 g.L⁻¹ ou 100 g.L⁻¹ de saccharose.

Pour tester l'effet des régulateurs de croissance sur la microtubérisation et l'effet rémanent de ces hormones sur la germination des microtubercules, les milieux de culture ont été enrichis ou non en cytokinines (Kinétine et BAP) à des concentrations variant de 1 ou 2,5 mg.L⁻¹ et / ou en Coumarine (0,025 mg.L⁻¹ et 0,25 mg.L⁻¹). Ces milieux de culture à pH 5,9 ont été solidifiés avec de l'agar à 8 g.L⁻¹ et autoclavés à 110°C pendant 20 min. (Tableau 4)

Tableau 4. Composition des différents milieux de culture utilisés pour la microtubérisation des trois variétés de pomme de terre.

Nomenclature des milieux de tubérisation	Traitements (Composition des milieux de culture)
MT1	MS/2 + Saccharose 80 g.L ⁻¹
MT2	MS/2 + Saccharose 100 g.L ⁻¹
M1	MS/2 + Kin 1 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹
M2	MS/2 + Kin 1 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹
M3	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹
M4	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹
M5	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹
M6	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹

Pour chaque traitement, l'unité expérimentale est formée d'un bocal rempli de 50 ml de milieu MS/2 et contenant 20 explants. Nous avons utilisé 5 bocaux par traitement soit 100 explants. Le dispositif expérimental adopté est une randomisation totale de 3 traitements par variété.

Les explants des 3 variétés (Aïda, Atlas et Odessa) sont fragmentés en autant de tronçons que de segments uninodaux (en éliminant cependant le bourgeon apical et basal) afin d'obtenir un matériel homogène. Après la section, les boutures mononodales sont introduites aseptiquement dans les bocaux de culture puis incubés à l'obscurité sous une température faible, soit $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Planche 8).

A la fin des essais, le rendement en microtubercules de chaque variété par milieu de culture est évalué au bout de 9 semaines. Puis, les tubercules développés *in vitro* sont récoltés et triés selon les calibres utilisables (supérieur à 1 mm). L'évaluation des paramètres morphologiques et ceux associés à la croissance et au développement des microtubercules (taille, poids et nombre moyen de microtubercules produits par explant), a été réalisée.



Planche 8. Aspect des microboutures mononodales en phase de microtubérisation à l'obscurité à 20°C . (0,287cm sur la photo représente une distance réelle de 1cm).

3. Analyse statistique des résultats

Une étude statistique comportant une analyse de la variance et le calcul de la moyenne, est effectuée à l'aide du logiciel SPSS version 17.0. L'analyse statistique a porté sur la comparaison des différents traitements à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à un seuil de 5%, suivie d'une comparaison des moyennes (Test de Student, Newman et Keuls), et cela dans le cas où l'interaction entre les deux facteurs (Variété x Milieu) est significative. Cette analyse est portée sur l'ensemble des paramètres mesurés (nombre moyen de microtubercules, poids et taux) lors de la microtubérisation. Les résultats obtenus sont ensuite représentés sous forme de graphiques en fonction des variétés et des milieux à l'aide du logiciel EXCEL.

II. RESULTATS

Sur les milieux de culture MS/2 enrichis en saccharose (80 et 100 g L⁻¹) et complétés ou non en cytokinines (Kin et BAP 1 mg L⁻¹ à 2,5 mg L⁻¹) et/ou en Coumarine (0,025 mg L⁻¹), on a constaté une tubérisation précoce 13 jours après incubation des vitroplants de la variété Aïda. Ce phénomène de microtubérisation n'a débuté qu'au 19^{ème} et 20^{ème} jour respectivement pour les variétés Odessa et Atlas. En général, les microtubercules de la variété Aïda (Planche 9) ont un aspect beaucoup plus sphérique que ceux des variétés Atlas et Odessa qui sont plutôt allongés à oblongues. La plupart d'entre eux, quelle que soit la variété, se développent à l'aisselle des nœuds hors du milieu de culture en position épigée (92%).

1. Influence du saccharose sur la microtubérisation

Les miniboutures, repiquées sur le milieu MS/2 additionné de saccharose, ont donné naissance à des microtubercules avec un taux de tubérisation variant en fonction de la concentration en saccharose (80 ou 100 g.L⁻¹) dans le milieu de culture. Un taux de tubérisation optimal a été obtenu pour la variété Aïda (91%) en présence de 80 g.L⁻¹ de saccharose (Figure 3). En revanche, pour les variétés Odessa et Atlas, celui-ci est respectivement de 67% et 28,5%, en présence de 100 g.L⁻¹ de saccharose. La variété Aïda présente donc une meilleure aptitude à la microtubérisation (Tableau 5).

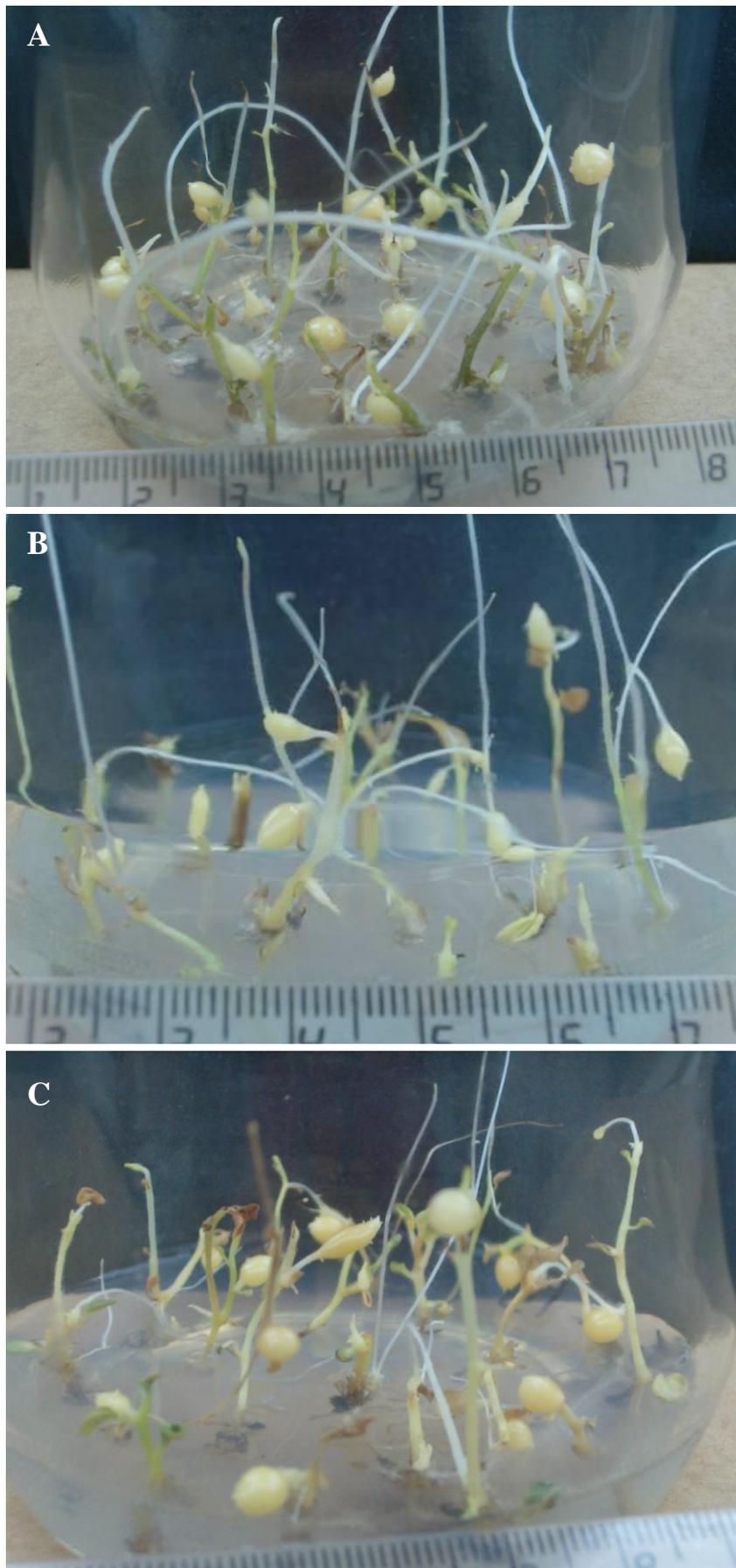
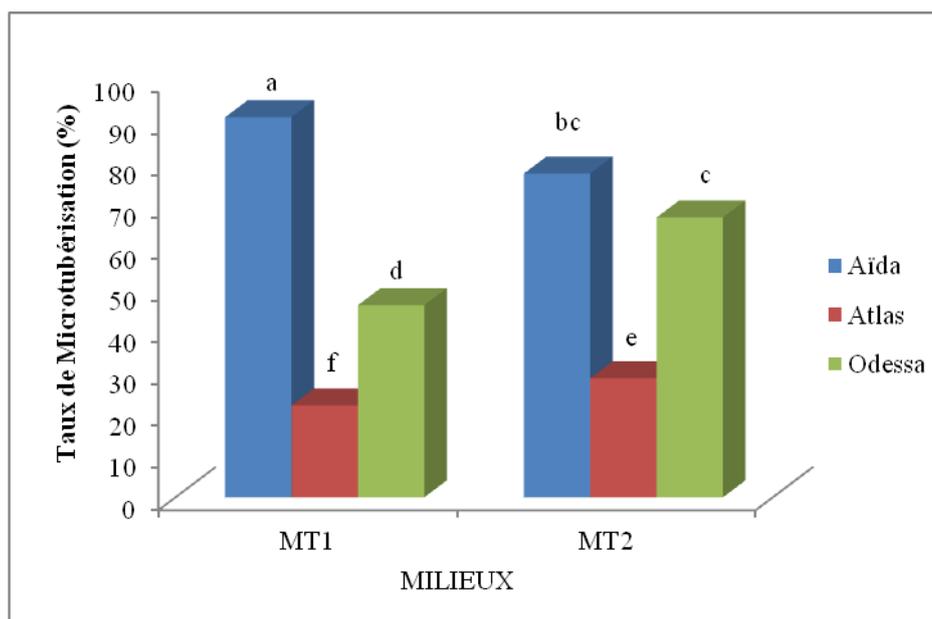


Planche 9. Aspect morphologique des microtubercules des trois variétés de pomme de terre : Aida (A), Atlas (B) et Odessa (C) formés dans le milieu MS/2 enrichi en saccharose, en cytokinines et/ ou en coumarine après 9 semaines d'incubation à 20°C.



MT 1 = MS/2 + Saccharose 80 g L⁻¹

MT 2 = MS/2 + Saccharose 100 g L⁻¹

Figure 3. Effet du saccharose sur le taux de microtubérisation des variétés Aïda, Atlas et Odessa après 9 semaines d'incubation à 20°C.

Effectifs : 100 microboutures / concentration de saccharose / variété. Pour chaque concentration de saccharose les lettres a, b, c, d, e et f indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

Tableau 5. Effets des concentrations en saccharose et des combinaisons hormonales sur la microtubérisation des trois variétés de pomme de terre après 9 semaines d'incubation à 20°C.

Nomenclature	Traitements	Taux de microtubérisation(%)		
		AÏDA	ATLAS	ODESSA
MT1	MS/2 + Saccharose 80 g.L ⁻¹	91 a	22 j	46 gh
MT2	MS/2 + Saccharose 100 g.L ⁻¹	77,5 bc	28,5 i	67 cde
M1	MS/2 + Kin 1 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	61,5 def	66,5 cde	69 cde
M2	MS/2 + Kin 1 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	55,5 efg	43,5 gh	66,5 cde
M3	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	67 cde	51,5 fg	71 cd
M4	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	88,5 a	37,5 hi	74,5 cd
M5	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	85,5 ab	43,5 gh	51 fg
M6	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	66,5 cde	28 i	31,5 i

Dans une colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de la probabilité $p < 0,05$ (Test de Student, Newman et Keuls).

2. Effet combiné des cytokinines (Kin+ BAP) et du saccharose

La combinaison M4 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹] favorise mieux la tubérisation *in vitro* des miniboutures avec un taux atteignant 88,5% pour la variété Aïda. La variété Odessa offre aussi un taux de tubérisation (74,5%) élevé qui, cependant, reste inférieur à celui de la variété Aïda. Pour la variété Atlas, la combinaison M1 [MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹ de Saccharose], est la plus efficace, avec un taux de tubérisation équivalent à 66,5%. La variété Aïda tubérise mieux *in vitro* lors de l'adjonction de la combinaison hormonale Kin + BAP comparativement à la variété Odessa (74,5%) et à la variété Atlas (66,5%) (Figure 4 & Tableau 5).

3. Effet combiné de la kinétine et de la coumarine en présence de saccharose

Le taux de microtubérisation varie de 28% à 85,5%. La combinaison M5 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,025 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹] s'est révélée plus propice à la microtubérisation pour toutes les variétés. Ainsi, un taux de tubérisation de 85,5% a été obtenu pour la variété Aïda, 51% pour Odessa et 36% pour la variété Atlas (Tableau 5).

La substitution de la BAP par la coumarine dans la combinaison hormonale n'a pas été bénéfique car on a constaté une réduction du taux de microtubérisation pour toutes les variétés quelle que soit la concentration en saccharose ajoutée au milieu de culture.

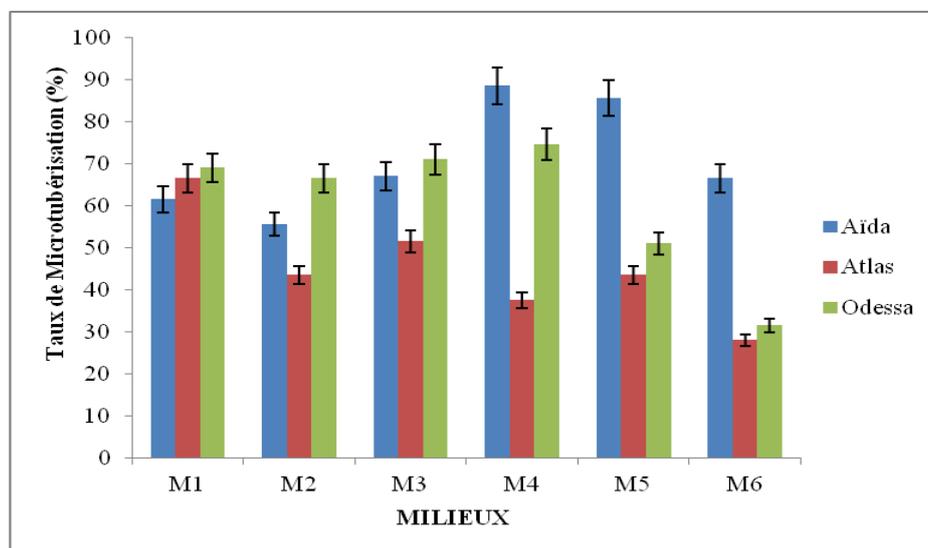


Figure 4. Effet du saccharose et des combinaisons hormonales sur la microtubérisation des variétés Aïda, Atlas et Odessa après 9 semaines d'incubation à 20°C.

M 1 = MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹

M 2 = MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹

M 3 = MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹

M 4 = MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹

M 5 = MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,025 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹

M 6 = MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,025 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹

4. Effet du milieu de tubérisation sur le nombre et le poids des microtubercules

4.1. Effet du milieu de tubérisation sur le nombre de microtubercules

Le saccharose et les cytokinines favorisent l'induction à la tubérisation. En effet, on a obtenu un meilleur rendement en microtubercules sur le milieu de culture MS/2 enrichi avec 80 g.L⁻¹ de saccharose avec un nombre équivalent à 182 pour la variété Aïda. Ce rendement n'est pas significativement différent de celui des milieux M4 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹] (177) et M5 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,025 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹] (171). Le meilleur rendement pour les variétés Atlas (133) et Odessa (149) est obtenu respectivement sur les milieux de tubérisation M1 [MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹] et M4 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1mg.L⁻¹+ Saccharose 100 g.L⁻¹] (Tableau 6).

Tableau 6. Nombre de microtubercules formés sur les 100 explants par variété à différents milieux de tubérisation *in vitro*.

Nomenclature	Traitements	Nombre de microtubercules		
		AÏDA	ATLAS	ODESSA
MT1	MS/2 + Saccharose 80 g.L ⁻¹	182	44	92
MT2	MS/2 + Saccharose 100 g.L ⁻¹	155	57	134
M1	MS/2 + Kin 1mg.L ⁻¹ + BAP1mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	123	133	138
M2	MS/2 + Kin 1mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	111	87	133
M3	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ +BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	134	103	142
M4	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	177	75	149
M5	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	171	87	102
M6	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose100 g.L ⁻¹	133	56	63

4.2. Effet du milieu de tubérisation sur le poids des microtubercules

Le poids des microtubercules, formés sur le milieu MS/2 enrichi avec 80g.L⁻¹ de saccharose, est plus élevé, soit 10,413 g. Les microtubercules formés dans le milieu MT2 [MS/2 + saccharose 100g.L⁻¹], bien qu'ayant un nombre de 155, ont donné un poids de 9,045 g qui n'est pas significativement différent de 10,413 g. Les combinaisons hormonales M3 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹] et M4 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹

¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹] ont donné les poids moyens les plus élevés avec respectivement 3,78 g pour la variété Odessa et 3,45 g pour la variété Atlas (Tableaux 7). Il semble donc que le poids des microtubercules dépend aussi bien du nombre de microtubercules que du calibre.

Tableau 7. Poids (g) moyen des microtubercules produits par variété sur différents milieux de tubérisation *in vitro*.

Nomenclature	Traitements	Poids moyen des microtubercules (g)		
		AÏDA	ATLAS	ODESSA
MT1	MS/2 + Saccharose 80 g.L ⁻¹	10,413	0,939	0,57
MT2	MS/2 + Saccharose 100 g.L ⁻¹	9,045	1,559	2,2
M1	MS/2 + Kin 1mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	3,909	2,07	1,295
M2	MS/2 + Kin 1mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	0,352	1,553	1,851
M3	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	0,44	1,078	3,787
M4	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	4,292	3,45	1,772
M5	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	4,532	2,113	2,466
M6	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,025 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	7,082	1,178	0,81

5. Effet combiné de la Kinétine et de la Coumarine à concentration modifiée

Les concentrations hormonales, donnant les meilleurs taux de microtubérisation de chaque variété, ont été utilisées pour tester l'effet d'une augmentation de la concentration en Coumarine (0,25 mg.L⁻¹) sur la tubérisation. Pour ce faire, 50 microboutures par variété, réparties dans 10 bocaux, à raison de 5 microboutures par bocal, ont été utilisées pour chaque traitement. (Tableau 8)

Tableau 8. Composition des différents milieux de culture utilisés pour le test d'une augmentation de la concentration en coumarine.

Nomenclature des milieux de tubérisation	Traitements
MT1	MS/2 + Saccharose 80 g.L ⁻¹
MT2	MS/2 + Saccharose 100 g.L ⁻¹
M1	MS/2 + Kin 1 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹
M4	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹
M7	MS/2 + Kin 1 mg.L ⁻¹ + Coum 0,25 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹
M8	MS/2 + Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,25 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹

Les résultats obtenus montrent qu'en augmentant la concentration en coumarine de 0,025 à 0,25 mg L⁻¹, le taux de microtubérisation devient plus important. Nous avons obtenu 86,66% contre 85,5% pour la variété Aïda, 82,22% contre 51% pour la variété Odessa et 86% contre 43,5% pour la variété Atlas (Figure 5 ; Planche 10).

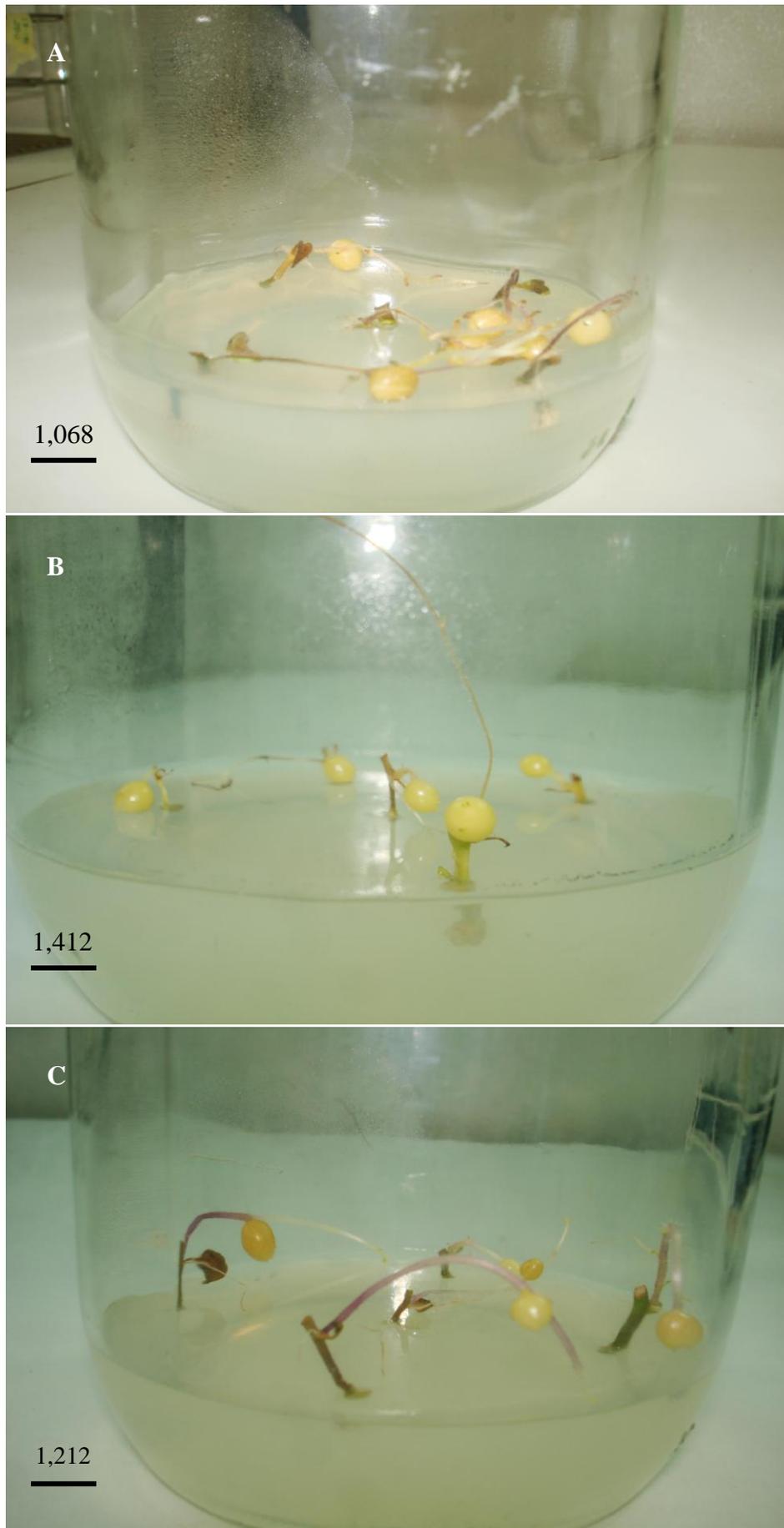


Planche 10. Aspect morphologique des microtubercules après une augmentation de la concentration en coumarine ($0,25 \text{ mg.L}^{-1}$) sur le milieu de tubérisation des trois variétés : Aïda (A), Atlas (C) et Odessa (B) à 20°C .

La substitution de la BAP par la coumarine dans la combinaison hormonale n'a pas été bénéfique comme précédemment obtenu pour les variétés Aïda et Odessa car on constate une réduction du taux de microtubérisation quelle que soit la concentration en saccharose ajoutée au milieu de culture. Pour la variété Atlas, on constate une légère augmentation non significative.

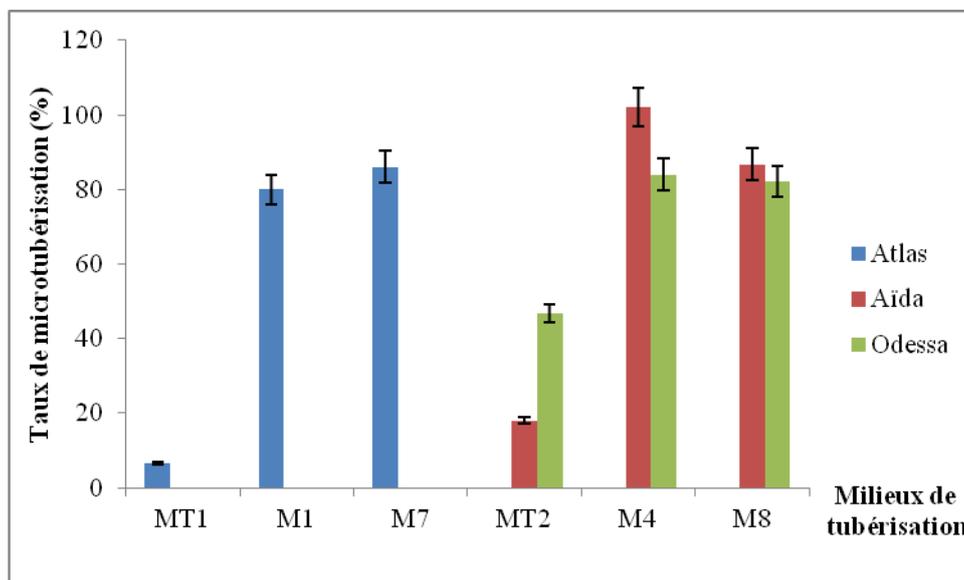


Figure 5. Effet du saccharose et des combinaisons hormonales à concentration de la coumarine modifiée sur la microtubérisation des variétés Aïda, Atlas et Odessa après 9 semaines d'incubation à 20°C.

Effectifs : 50 explants / traitement / variété.

Le nombre de microtubercules est plus important sur le milieu de culture M4 : [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹] (51) pour la variété Aïda ; M7 : [MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + Coum 0,25 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹] (43) pour Atlas et M4 : [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹] (42) pour Odessa. La substitution de la BAP par la Coumarine est bénéfique uniquement pour la variété Atlas mais ce nombre n'est pas significativement différent de celui de M1 : [MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹] (40). (Tableau 9)

Les combinaisons hormonales M4 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹] et M7 [MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + Coum 0,25 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹] ont donné les meilleurs poids de microtubercules avec respectivement 4,337 g pour la variété Aïda, 3,602 g pour la variété Odessa et 3,880 g pour Atlas. La substitution de la BAP par la Coumarine est bénéfique pour la variété Atlas en ce qui concerne le poids (Tableau 10). Le calibre moyen des microtubercules est plus élevé lorsqu'on a remplacé la BAP par la Coumarine pour toutes les variétés (Tableau 11 ; Planche 11). L'augmentation de la concentration en Coumarine de

0,025 à 0,25 mg.L⁻¹ a permis de relever le taux de microtubérisation pour toutes les variétés : Aïda de 85,5 à 86,66% ; Atlas de 43,5 à 86% et Odessa de 51 à 82,22%.

Tableau 9. Nombre de microtubercules formés par variété et par milieu après 9 semaines d'incubation à l'obscurité (20°C).

Milieus de Tubérisation	Nombre de microtubercules formés
Atlas : [MT1]	3
Atlas : [M1]	40
Atlas : [M7]	43
Aïda : [MT2]	9
Aïda : [M4]	51
Aïda : [M8]	39
Odessa : [MT2]	21
Odessa : [M4]	42
Odessa : [M8]	37

Tableau 10. Poids frais total des microtubercules formés par variété et par milieu après 9 semaines d'incubation à l'obscurité (20°C).

Milieus de Tubérisation	Poids frais total des microtubercules en g
Atlas : [MT1]	1,782 c
Atlas : [M1]	3,863 ab
Atlas : [M7]	3,880 ab
Aïda : [MT2]	1,945 c
Aïda : [M4]	4,337 a
Aïda : [M8]	3,810 ab
Odessa : [MT2]	2,575 bc
Odessa : [M4]	3,602 ab
Odessa : [M8]	3 b

Dans la colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de la probabilité $p < 0,05$ (Test de Student, Newman et Keuls).

Tableau 11. Calibre moyen des microtubercules formés par variété et par milieu après 9 semaines d'incubation à l'obscurité (20°C).

Milieus de Tubérisation	Calibre moyen des microtubercules formés (cm)
Atlas : [MT1]	0,5 ab
Atlas : [M1]	0,54 ab
Atlas : [M7]	0,557 ab
Aïda : [MT2]	0,375 b
Aïda : [M4]	0,527 ab
Aïda : [M8]	0,609 a
Odessa : [MT2]	0,45 ab
Odessa : [M4]	0,4 ab
Odessa : [M8]	0,472 ab

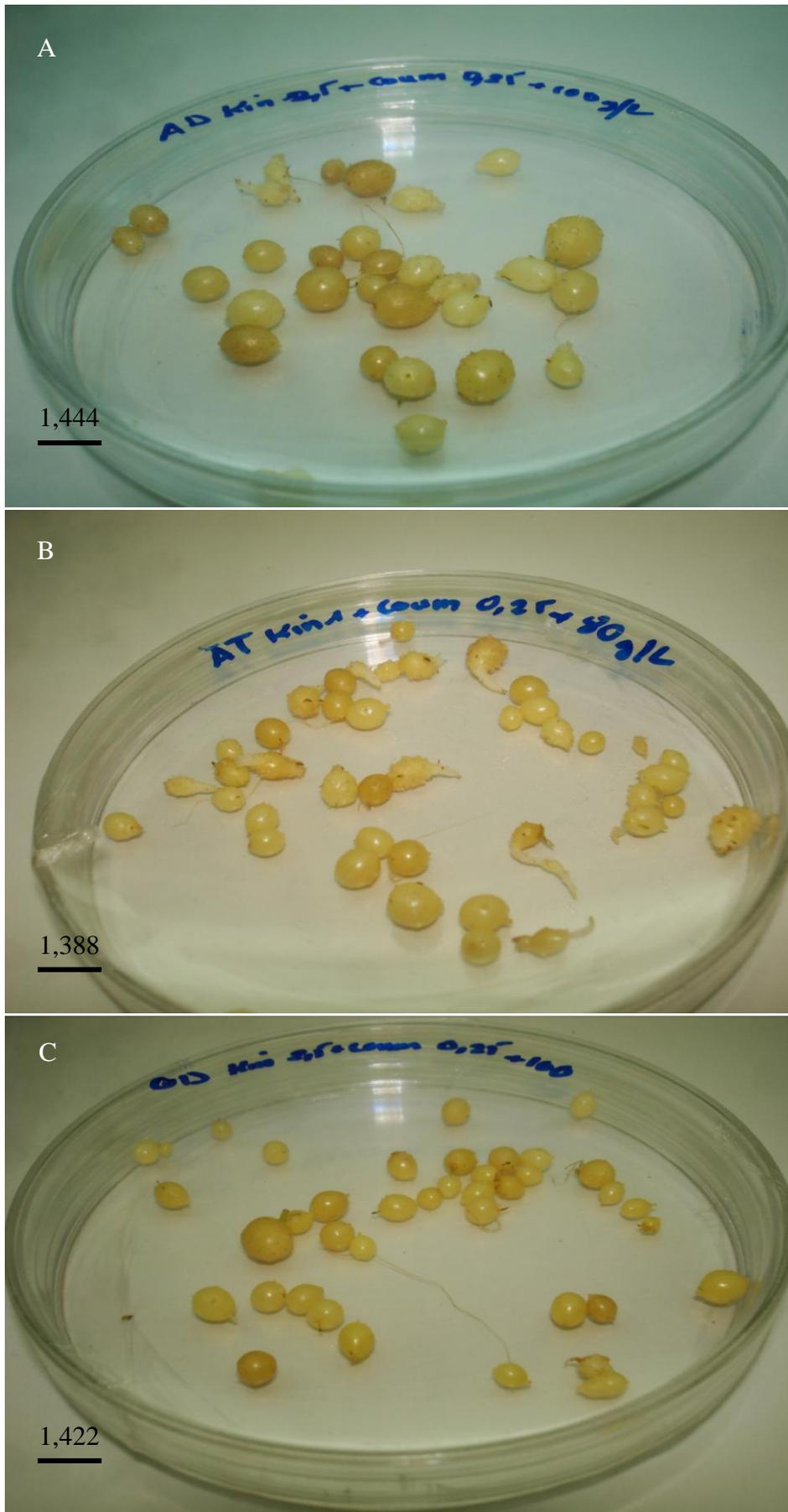


Planche 11. Aspect morphologique des microtubercules des trois variétés de pomme de terre : (Aïda (A), Atlas (B) et Odessa (C). Les chiffres (cm) sur la barre d'échelle représentent une distance réelle de 1cm.

III. DISCUSSION

Des études menées sur les facteurs impliqués dans la tubérisation *in vitro* de la pomme de terre ont fait l'objet de plusieurs publications scientifiques vers les années 60 (Booth, 1963 ; Madec, 1963 ; Slater, 1963). En général, la tubérisation de la pomme de terre est induite par un raccourcissement de la photopériode (jours courts) et un abaissement de la température. La tubérisation dépend aussi de la nutrition azotée (Ewing, 1995).

Le milieu de culture utilisé pour la microtubérisation est le milieu nutritif de base de Murashige & Skoog (1962) dilué de moitié (MS/2). En effet, la tubérisation *in vitro* est également induite par une modification des conditions nutritives de croissance des boutures, ce qui les oriente vers une tubérisation sur des stolons produits à la base. Ainsi, Dieng (1993) dilue de moitié la solution minérale (macro-éléments) du milieu de culture et obtient une tubérisation plus précoce et plus importante des variétés étudiées. L'installation sur un nouveau milieu nutritif de base contenant 100 mM d'azote sous forme de NH_4NO_3 permet le grossissement des tubercules (Lê & Thomas, 2009). Cependant, un fort taux d'azote aurait l'effet inverse et inhiberait la tubérisation (Jackson, 1999)

Lors de cette expérience de microtubérisation, les microboutures apicales et basales ont été éliminées au niveau de chaque vitroplant. En effet, Lê (1991) avait remarqué que celles-ci présentaient une perte de productivité au cours de multiples subcultures comparativement aux explants issus des niveaux d'insertion sous-jacents.

1. Influence du saccharose sur la microtubérisation

L'étude de l'influence du saccharose sur la tubérisation des microboutures cultivées *in vitro* a révélé que l'optimum du potentiel de tubérisation s'obtient en présence de 80 g.L^{-1} de saccharose pour la variété Aïda avec un taux de microtubérisation de 91%. Les variétés Odessa et Atlas ont une tubérisation maximale avec une concentration en saccharose de 100 g.L^{-1} . Le taux maximum de microtubérisation de ces deux dernières variétés était respectivement de 67% et 28,5%. Des résultats comparables avec les mêmes concentrations en saccharose ont été obtenus par Lê (1990) avec la variété Agria ; Dieng (1993) avec la variété Atlantic \times LT7(18) et Ndiaye (2001) avec la variété Bintje. En effet, le sucre sert de substrat carboné à la biosynthèse de l'amidon. Les tissus cultivés *in vitro* sont largement hétérotrophes vis-à-vis du carbone en raison de l'absence ou de l'insuffisance de

l'assimilation chlorophyllienne, et ceci d'autant plus que l'incubation est faite à l'obscurité. D'où l'idée soutenue par Palmer & Smith (1970), ensuite par Lakhoua & Ellouze (1990) que les extrémités des stolons de pomme de terre ont besoin, pour tubériser, d'une concentration élevée en sucres. De plus, le saccharose intervient dans le processus de la tubérisation en induisant la synthèse de nombreuses protéines comme la patatine ou l'ADP glucose pyrophosphorylase (Jackson, 1999). Il induit et active l'expression des gènes dirigeant la synthèse de l'amidon, et par là même son accumulation dans les tubercules (Banfalvi *et al.*, 1999). Sur un milieu pauvre en sucres, la tubérisation est tardive et plus faible.

La durée de culture des explants uninodaux de pomme de terre pendant la phase de tubérisation a une influence importante sur la qualité des tubercules développés. En effet, le prolongement de la phase de tubérisation *in vitro* permet d'augmenter la masse de microtubercules en cours de formation qui deviennent utilisables dès la vingtième semaine de culture. Cette amélioration tend à se stabiliser après cette période. Toutefois, le nombre de tubercules produits par explant initial demeure inchangé avec les différentes durées de tubérisation (Lê & Thomas, 2010). Ces résultats sont en adéquation avec les nôtres car nous avons incubé nos explants uninodaux pendant 9 semaines.

2. Influence des phytohormones sur la microtubérisation

L'adjonction d'hormones comme les cytokinines (Kin et BAP) et la coumarine, au milieu de culture entraîne une meilleure réponse des microboutures à la tubérisation des variétés Odessa et Atlas avec respectivement un taux maximum de microtubérisation de 74,5% et 66,5%. Ces résultats confortent ceux de Dieng (1993) sur d'autres variétés de pomme de terre, ce qui montre que les cytokinines jouent un rôle primordial dans l'initiation des microtubercules. En effet, elles sont à l'origine de l'ensemble des processus qui induisent la tubérisation, à savoir : l'activation de la division cellulaire (Skoog & Miller, 1957) ; l'inhibition de l'élongation cellulaire (Pegg, 1962) ; la stimulation de l'extension radiale des cellules (Scott & Liverman, 1956) ; l'activation des enzymes (Mingo-Castel *et al.*, 1980) et, enfin, l'accumulation de l'amidon dans les cellules (Vasil, 1973).

Pour la variété Aïda, l'adjonction d'hormones n'a pas donné une meilleure réponse de tubérisation car on a observé un taux de 88,5% contrairement au milieu témoin sans hormone

qui offrait 91%. Ce résultat conforte les observations de Palmer & Smith (1969) qui affirment qu'il n'est pas évident qu'il y ait une stimulation spécifique de la tubérisation suite à une application de régulateurs de croissance exogènes. En outre, Charles *et al.* (1995) ont réussi à modéliser, un développement synchrone de microtubercules à l'absence d'hormones.

Au niveau des variétés Aïda et Odessa, nous avons constaté que les microboutures mises en culture dans le milieu contenant 100 g.L⁻¹ de saccharose, enrichi en kinétine à une concentration de 2,5 mg.L⁻¹ et en BAP à 1 mg.L⁻¹, manifestaient une tubérisation plus précoce et plus importante. Quant à la variété Atlas, la combinaison Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹ s'est révélée la plus efficiente. Ces résultats confortent ceux de Ndiaye (2001) qui observe une tubérisation très importante lorsqu'on combine Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹; mais les travaux de Dieng (1993) montrent que la combinaison Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹ est la plus efficiente pour la variété Atlantic × LT7 (18).

La combinaison hormonale kinétine + coumarine + saccharose à des concentrations de 80 g.L⁻¹ et 100 g.L⁻¹ donne un taux de tubérisation maximal inférieur à celui obtenu lors de l'adjonction des cytokinines seules pour toutes les variétés. En effet, Ewing (1995) montre que parmi les multiples activateurs de croissance, les cytokinines jouent un rôle majeur en matière d'induction de la tubérisation chez *Solanum tuberosum* L. Il en serait de même pour certains composés phénoliques comme la coumarine qui est un très puissant activateur de la tubérisation d'explants excisés de pomme de terre (Paupardin & Tizio, 1970). De plus, Stallknecht (1972) montre que la tubérisation réalisée avec une concentration en coumarine de 25-50 mg.L⁻¹ requiert seulement 15 à 20 jours pour obtenir 100% de vitroplants tubérisés et que le processus de tubérisation était optimal. Il observe aussi des microtubercules de plus gros calibre. Weston (1976) montre qu'une bonne tubérisation des vitroplants en présence de coumarine, requiert une température de 20°C, un minimum de 4% de saccharose et un maximum de 6 à 8%. Une concentration de 12% entraîne une inhibition de l'action de la coumarine sur la tubérisation. Ces résultats sont confirmés lors de nos travaux car le taux de tubérisation des vitroplants cultivés sur le milieu de culture enrichi avec 80 g.L⁻¹ de saccharose, est supérieur à celui obtenu dans le milieu avec 100 g.L⁻¹ de saccharose. Une augmentation de la concentration en Coumarine de 0,025 mg.L⁻¹ à 0,25 mg.L⁻¹ a permis de relever le taux de microtubérisation de façon substantielle mais aussi d'augmenter le calibre des microtubercules.

3. Effet du milieu de tubérisation sur le nombre et le poids des microtubercules

Le poids des microtubercules de la variété Aïda est supérieur à celui des deux autres variétés quel que soit le milieu de culture utilisé. Ces résultats confortent ceux de Lakhoua & Ellouze (1990) qui traduisent une corrélation entre les poids de vitrotubercules et la vigueur des plants cultivés. En effet, les plants les plus vigoureux donnent des microtubercules plus homogènes et d'un calibre supérieur à 5 mm.

Le meilleur nombre de microtubercules s'observe avec la variété Aïda (182) dans le milieu MS/2 + Saccharose 80 g.L⁻¹, avec un poids moyen de 10,814 g des microtubercules formés. Ces résultats sont en adéquation avec ceux de Sidikou *et al.* (2003) qui montrent que le poids des microtubercules est proportionnel à leur maturité et au pourcentage de saccharose dans le milieu. En outre, pour la variété Aïda, le coefficient de multiplication par microbouture tubérisée est le plus élevé (1 à 3) quel que soit le milieu de tubérisation utilisé. Ce coefficient n'est que de l'ordre de 2 pour les variétés Atlas et Odessa avec un nombre global de microtubercules qui est respectivement de 133 et 149.

IV. CONCLUSION

Au terme de cette étude un certain nombre de points méritent d'être soulignés. La méthode de multiplication végétative *in vitro* utilisée permet facilement de respecter l'impératif de conformité (permanence et stabilité génétiques) des variétés de pomme de terre. La microtubérisation des microboutures nécessite un apport important de saccharose et de régulateurs de croissance. Elle est plus précoce lorsque le milieu de culture est enrichi en cytokinines. Une augmentation de la concentration en Coumarine dans le milieu de tubérisation favorise une tubérisation importante mais aussi un calibre élevé.

Ces résultats, dans leur globalité, permettent donc d'envisager la possibilité d'une multiplication en masse de microtubercules. Un test de la capacité germinative de ces microtubercules est nécessaire mais aussi l'influence de facteurs exogènes sur la germination afin de les utiliser comme semences pour augmenter la production agricole dans notre pays.

CHAPITRE III

INFLUENCE DES TRAITEMENTS HORMONAUX, DE LA
TEMPERATURE, DU CALIBRE ET DE L'ÂGE
PHYSIOLOGIQUE SUR LA GERMINATION DE
MICROTUBERCULES DE POMME DE TERRE (*Solanum
tuberosum* L.)

CHAPITRE III : INFLUENCE DES TRAITEMENTS HORMONAUX, DE LA TEMPERATURE, DU CALIBRE ET DE L'ÂGE PHYSIOLOGIQUE SUR LA GERMINATION DE MICROTUBERCULES DE POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum* L.).

INTRODUCTION

Dans la pratique agricole, le cycle de production de la pomme de terre est principalement végétatif, les tubercules produits constituant à la fois un organe de reproduction asexuée (tubercules semences) et la partie comestible de la plante. Les performances agronomiques des tubercules semences dépendent fortement de la dormance mais aussi de l'âge physiologique qui désigne l'état physiologique du tubercule à un moment donné de sa croissance. Cependant, l'utilisation du tubercule comme semence expose souvent les plants à des infections, notamment virales. Le microtubercule, produit dans un environnement aseptique, représente une alternative possible pour la production de semences de pomme de terre afin de pallier aux problèmes phytosanitaires. Ils présentent également l'avantage de pouvoir être manipulés facilement et nécessitent peu d'espace pour être entreposés. Les microtubercules peuvent être plantés directement au champ pour la production d'une très grande quantité de minitubercules qui constituent une autre alternative à la propagation *in vitro* conventionnelle effectuée par le microbouturage de tiges. En effet, au cours des deux dernières décennies, beaucoup d'efforts de recherche ont été déployés pour déterminer les conditions de production de microtubercules *in vitro* (Désirée *et al.*, 1995) et celles de production de minitubercules en serre afin de préciser les potentialités de propagation massive des pommes de terre. Les microtubercules de pomme de terre (*S. tuberosum* L.) produits *in vitro* sont aussi utilisés dans de nombreux secteurs de l'agriculture comme matériel pour la recherche (Coleman *et al.*, 2001), la conservation des ressources génétiques et la distribution internationale de génotypes cultivés (Estrada *et al.*, 1986), ainsi que pour les systèmes de certification (Slimmon *et al.*, 1989). En pratique, les gros microtubercules ont une période de dormance courte et un taux de survie élevé lors d'un transfert direct dans le sol (Leclerc *et al.*, 1994).

Pour définir les conditions optimales de germination des microtubercules, nous avons cherché dans ce chapitre à évaluer l'effet résiduel des régulateurs de croissance qui avaient été utilisés dans les milieux de tubérisation *in vitro* pour initier leur formation, à estimer

l'incidence de la température, du calibre et de l'âge physiologique sur leur germination *in vitro*. Cette étude permet d'optimiser leur utilisation en conditions de culture en plein champ.

I. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce chapitre représente les microtubercules des 3 variétés Aïda, Atlas et Odessa, récoltés aseptiquement sur les différents milieux de tubérisation. Les microtubercules ont été conservés par la suite dans des boîtes de pétri scellées hermétiquement au parafilm ou dans des bocaux étanches, entreposés à l'obscurité dans une chambre froide à $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 3 mois (Planche 11).

2. Méthodes

2.1. Mise en culture des microtubercules

Les tests de germination des microtubercules, initiés après la période de conservation au froid, ont été réalisés à trois différentes températures (25° ; 27° et $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) pour connaître la température idéale qui induirait le taux optimal de microtubercules germés. Quatre lots de 5 microtubercules obtenus à partir de différents milieux de tubérisation ont été utilisés. Ces microtubercules sontensemencés aseptiquement dans des tubes à essai remplis avec le milieu MS(0) puis incubés à l'obscurité et à différentes températures (Planche 12). Un décompte hebdomadaire du nombre de microtubercules germés est effectué pendant 8 semaines.

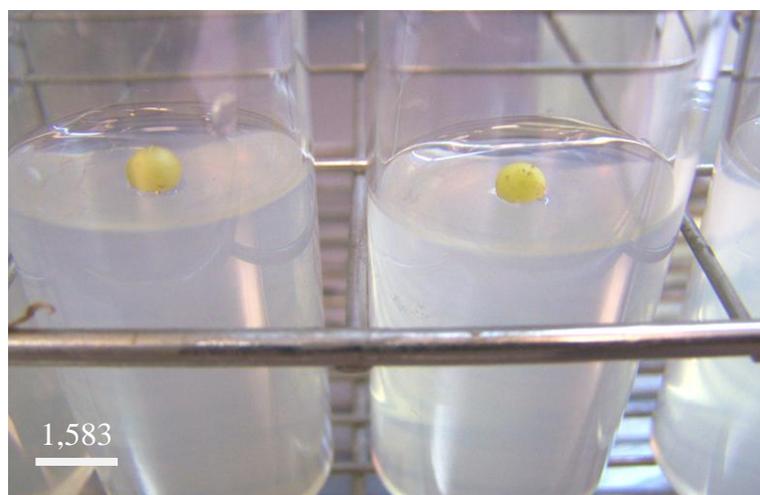


Planche 12. Aspect des microtubercules introduits sur le milieu de culture MS(0) et incubés à l'obscurité à 25°C . (1,583 cm sur la photo représente une distance réelle de 1 cm).

L'incidence du calibre des microtubercules sur la germination a été évaluée en utilisant 6 lots de 5 microtubercules par calibre (calibre inférieur et supérieur à 4 mm) et par variété. Les microtubercules sont ensemencés aseptiquement dans des tubes à essai remplis avec le milieu MS(0) puis incubés à l'obscurité à 25°C. Un décompte hebdomadaire du nombre de microtubercules germés est effectué pendant 8 semaines.

L'influence de l'âge physiologique des microtubercules sur la germination est mise en évidence en évaluant le paramètre longueur des germes obtenus. Ainsi, 5 microtubercules à calibre supérieur à 4 mm pour chaque âge physiologique sont incubés à l'obscurité et à une température de 25°C. La longueur du germe plus long de chaque microtubercule a été mesurée de façon hebdomadaire pendant 7 semaines aux différents stades : « monogerme », « germes ramifiés » et « germes multiples ». La longueur moyenne des germes est ensuite calculée aux différents stades.

2.2. Analyse statistique

L'analyse statistique a porté sur la comparaison des différents traitements par une analyse de variance (ANOVA) au seuil de 5%, suivie d'une comparaison des moyennes (Test de Student, Newman et Keuls) et cela dans le cas où l'interaction entre les quatre facteurs (variété x milieu x température x calibre et âge physiologique) est significative.

II. RESULTATS

1. Effet rémanent des hormones du milieu de tubérisation sur la germination

Le test de Student, Newman et Keuls indique des effets significatifs concernant les facteurs milieu, variété et l'interaction milieu x température (Tableau 12 et Planche 13), ce qui signifie que le taux de germination varie en fonction de la variété, du milieu de tubérisation et de la température.

Tableau 12. Influence des milieux de tubérisation et de la température sur la germination des microtubercules après 8 semaines de culture.

Nomenclature	Traitements	Taux de germination (%)		
		25°C	27°C	30°C
AT M1	Kin 1 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	100 a	80 bc	90 b
AT M7	Kin 1 mg.L ⁻¹ + Coum 0,25 mg.L ⁻¹ + Saccharose 80 g.L ⁻¹	70 cd	90 b	50 ef
AI M4	Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	100 a	90 b	50 ef
AI M8	Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,25 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	70 cd	50 ef	20 g
OD M4	Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + BAP 1 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	70 cd	60 de	50 ef
OD M8	Kin 2,5 mg.L ⁻¹ + Coum 0,25 mg.L ⁻¹ + Saccharose 100 g.L ⁻¹	60 de	50 ef	40 f

Dans une colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de la probabilité $p < 0,05$ (Test de Student, Newman et Keuls).

Le meilleur taux de germination est obtenu chez les microtubercules des variétés Atlas et Aïda et correspond à 100% de germination à 25°C. Ce taux de germination correspond aux microtubercules de la variété Atlas initialement formés dans le milieu M1 [Kin 1 mg. L⁻¹ + BAP 1 mg. L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹] et à ceux de la variété Aïda issus du milieu M4 [Kin 2,5 mg. L⁻¹ + BAP 1 mg. L⁻¹ + Saccharose 100g.L⁻¹]. Pour la variété Odessa, 70% correspond au taux de germination le plus élevé. Il est obtenu avec les microtubercules initialement formés dans le milieu M4 [Kin 2,5 mg. L⁻¹ + BAP 1 mg. L⁻¹ + Saccharose 100g.L⁻¹].

Les taux de germination des microtubercules issus du milieu de tubérisation enrichi en coumarine équivalent à 90% à 27 °C pour la variété Atlas. Pour toutes les autres variétés, dont les microtubercules se sont formés en présence de Coumarine, on constate qu'il n'y a pas d'amélioration du taux de germination quelle que soit la température. Les températures élevées (30°C) réduisent considérablement la germination des microtubercules. Ainsi, nous avons constaté une réduction de 50% entre 25°C et 30°C pour la variété Aïda et 20% pour Odessa. Cette réduction est faible pour la variété Atlas (Figure 6).

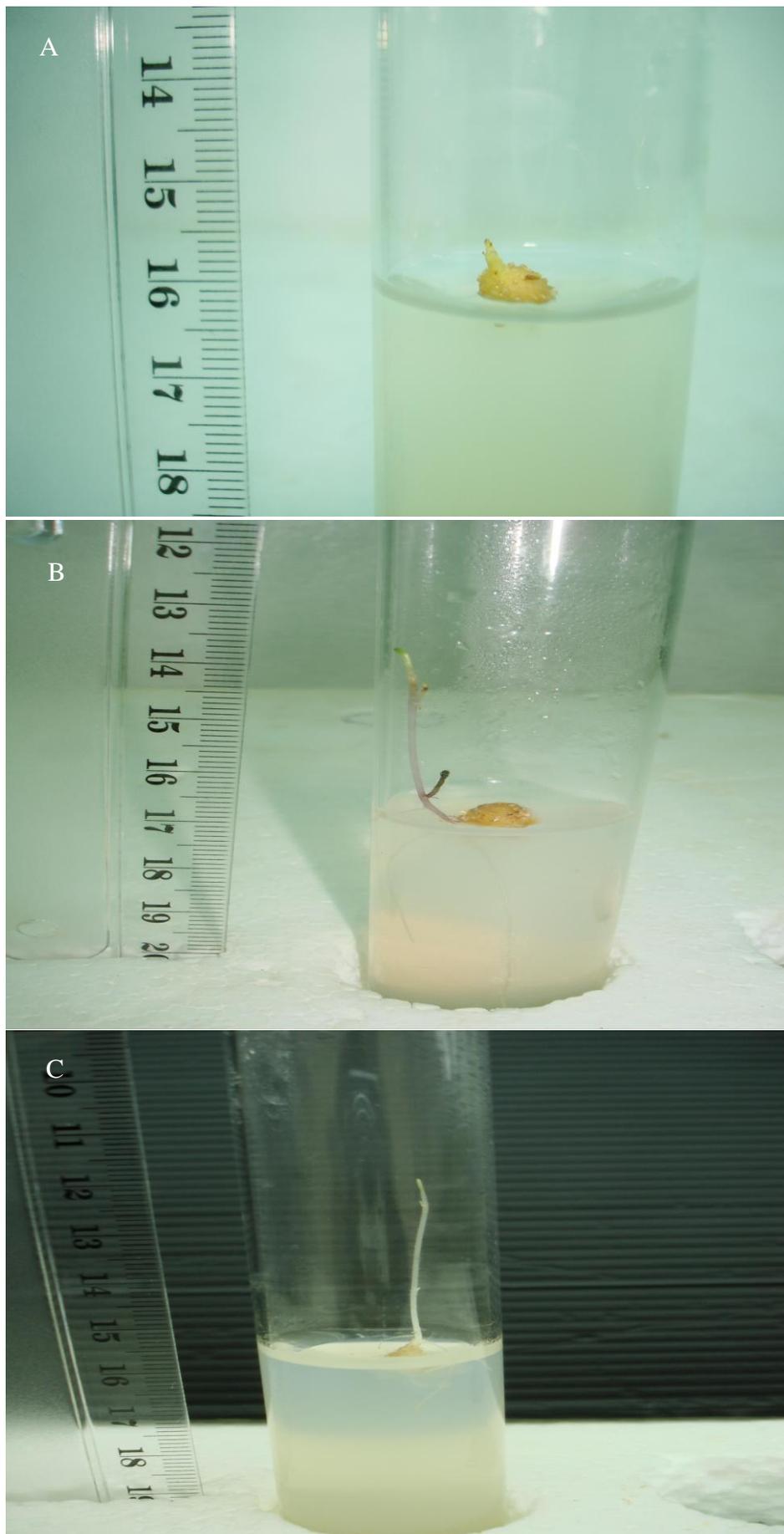


Planche 13. Germination *in vitro* des microtubercules dans le milieu MS(0) des différentes variétés : Aïda (A), Atlas (B) et Odessa (C) à 25°C.

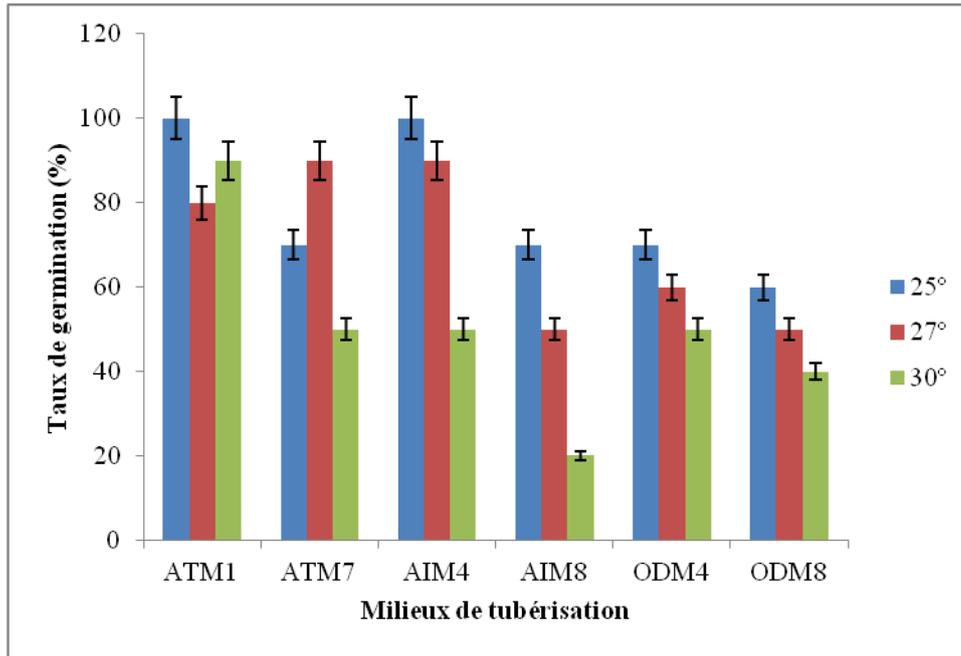


Figure 6. Effet rémanent des hormones sur le taux de germination des microtubercules chez les variétés Atlas, Aïda et Odessa après 8 semaines de culture à différentes températures. Effectifs : 10 microtubercules / traitement / température / variété.

AT M1 = AT MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹
 AT M7 = AT MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + Coum 0,25 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹
 AI M4 = AI MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹
 AI M8 = AI MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,25 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹
 OD M4 = OD MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹
 OD M8 = OD MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,25 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹

La cinétique de la germination montre que les microtubercules de la variété Atlas germent plus rapidement que ceux des autres variétés. Ces dernières ont des temps de latence longs qui peuvent durer 4 semaines selon les milieux d'origine (exemple M4 : [AI kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹] à 25°C). Ce résultat peut s'expliquer par le fait que ces microtubercules étaient encore dormants lors de leur introduction sur le milieu de germination (Figure 7). Les microtubercules des variétés Aïda et Odessa, issus du milieu de tubérisation M4, ont donné le taux de germination le plus élevé après 8 semaines d'incubation. Pour la variété Atlas, ce taux est obtenu lorsqu'ils sont issus du milieu M1.

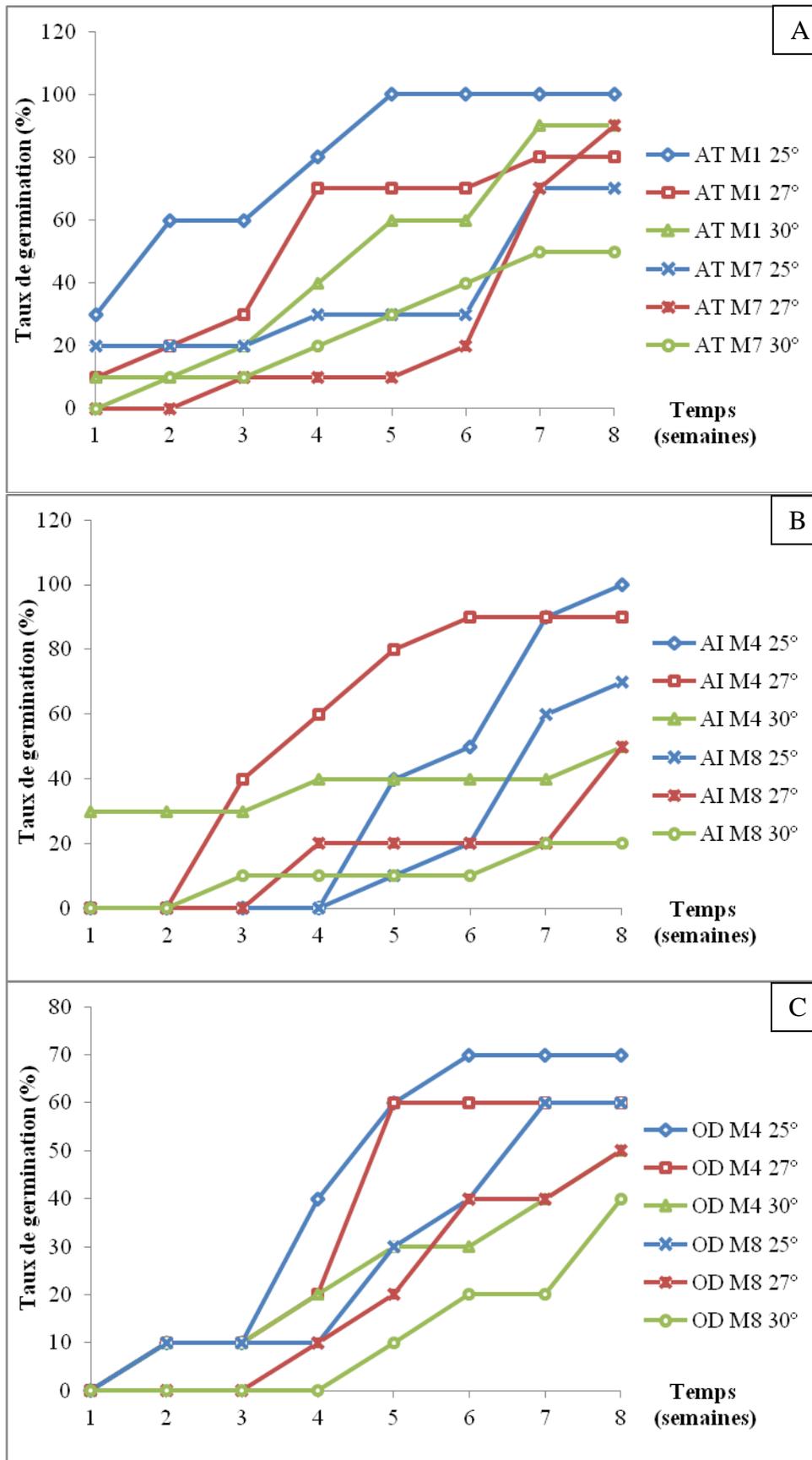


Figure 7. Cinétique de la germination des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) formés dans différents milieux de tubérisation.

2. Effet de la température sur la germination des microtubercules

L'expérimentation montre que les taux de germination les plus élevés sont obtenus à 25°C pour toutes les variétés. Cependant pour la variété Atlas, les températures 25°C et 27°C ont donné le même taux de germination 85%. Pour les variétés Aïda et Odessa, un taux optimal respectivement égal 85% et 65% a été obtenu à 25°C. Les températures élevées réduisent le taux de germination (Figure 8).

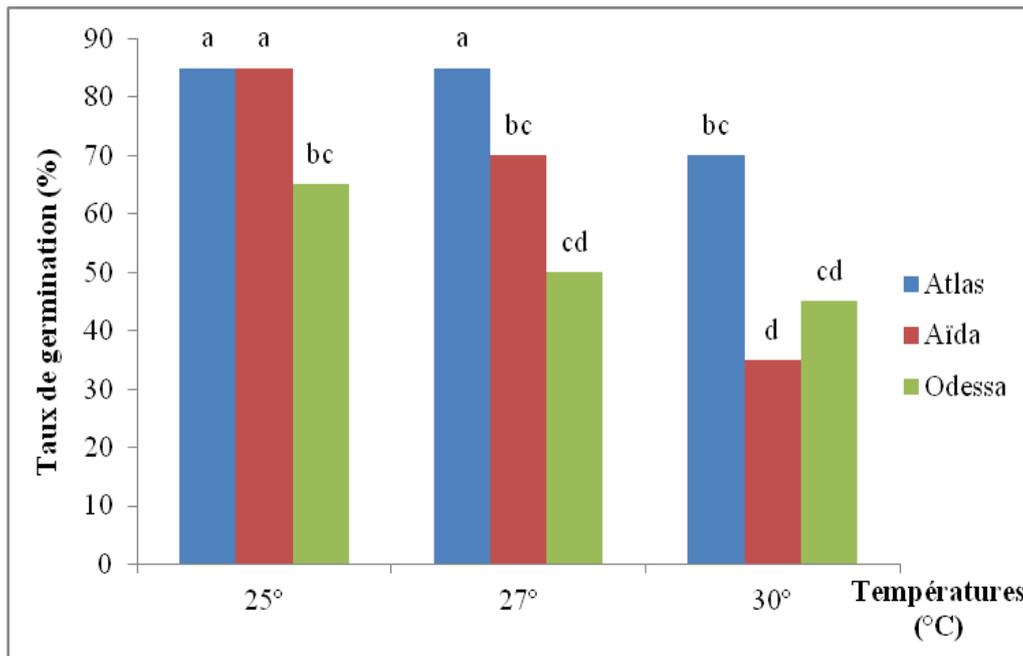


Figure 8. Effet de la température sur la germination des microtubercules de trois variétés de pomme de terre après 8 semaines de culture. Effectifs : 20 microtubercules / Température / variété. Pour chaque température, les lettres a, b, c et d indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

La cinétique de germination montre que la variété Atlas germe très rapidement après l'incubation quelle que soit la température (Figure 9A). La variété Aïda présente un temps de latence long de 4 semaines pour les microtubercules incubés à une température de 25°C et de 2 semaines à 27°C (Figure 9B). Cependant, dès que cette période est dépassée, la vitesse de germination devient très rapide pour atteindre 85% à 25°C et 70% à 27°C au bout de 8 semaines d'incubation. Pour la variété Odessa, le temps de latence est faible et ne dure qu'une semaine, quelle que soit la température (Figure 9C).

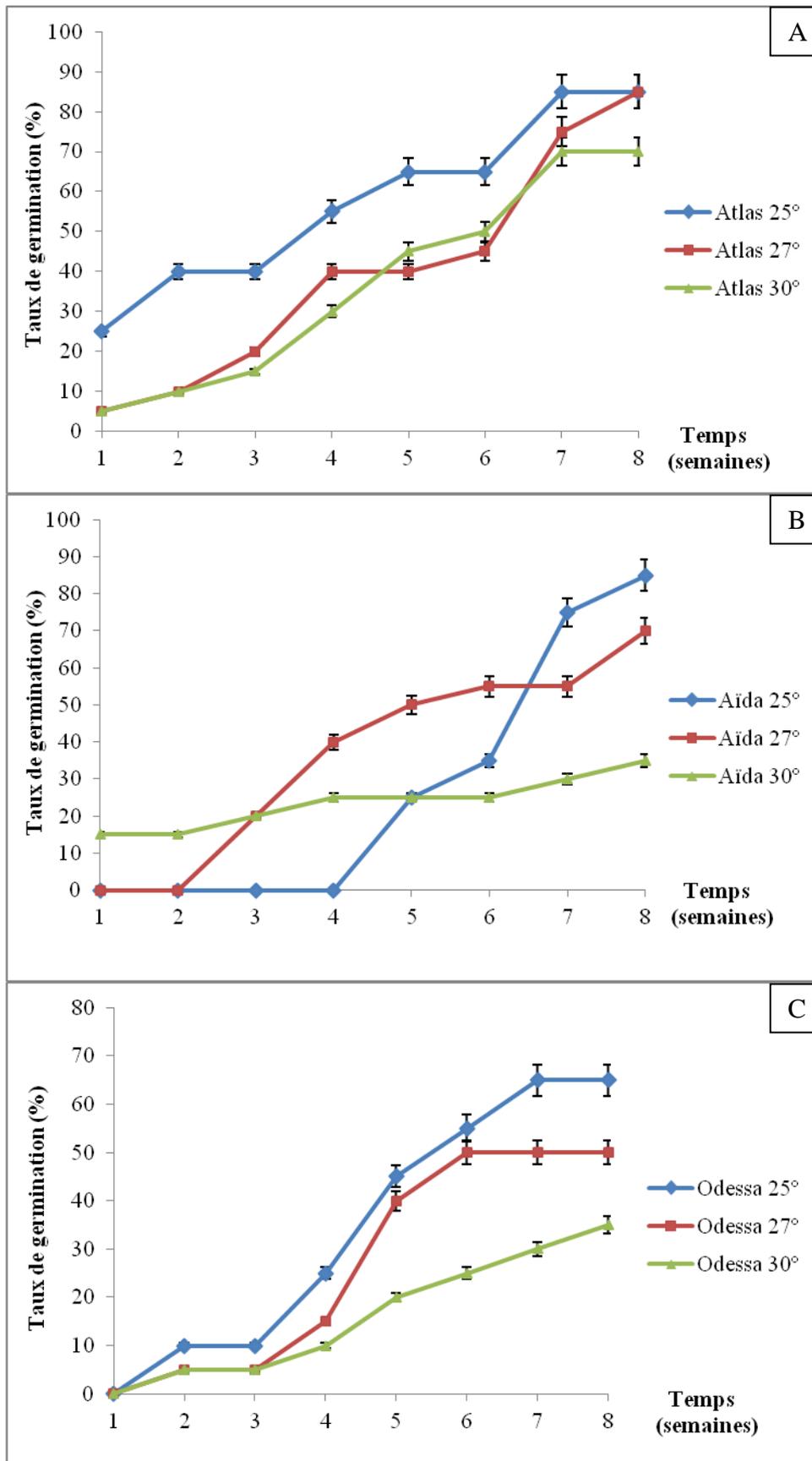


Figure 9 Cinétique de la germination des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) incubés à différentes températures.

3. Effet du calibre sur la germination des microtubercules

Cette étude a montré que pour toutes les variétés, les microtubercules à calibre supérieur à 4 mm ont donné un taux de germination plus élevé que celui des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. Ainsi pour les variétés Atlas, Aïda et Odessa, un taux respectivement égal à 86,66%, 70% et 70% pour le calibre supérieur à 4 mm a été obtenu. Pour le calibre inférieur à 4 mm, les taux de germination sont respectivement de 73,33%, 56,66% et 40%. Cependant, pour les variétés Atlas et Aïda, les taux de germination obtenus pour les microtubercules à calibre supérieur à 4 mm, ne sont pas significativement différents de ceux des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. Pour la variété Odessa, cette différence entre les deux calibres est significative ($F = 3,091$; $P = 0,005$).

La variété Atlas a donné un meilleur taux de germination (86,66% et 73,33%) quel que soit le calibre. Elle est suivie respectivement par les variétés Aïda et Odessa. (Figure 10)

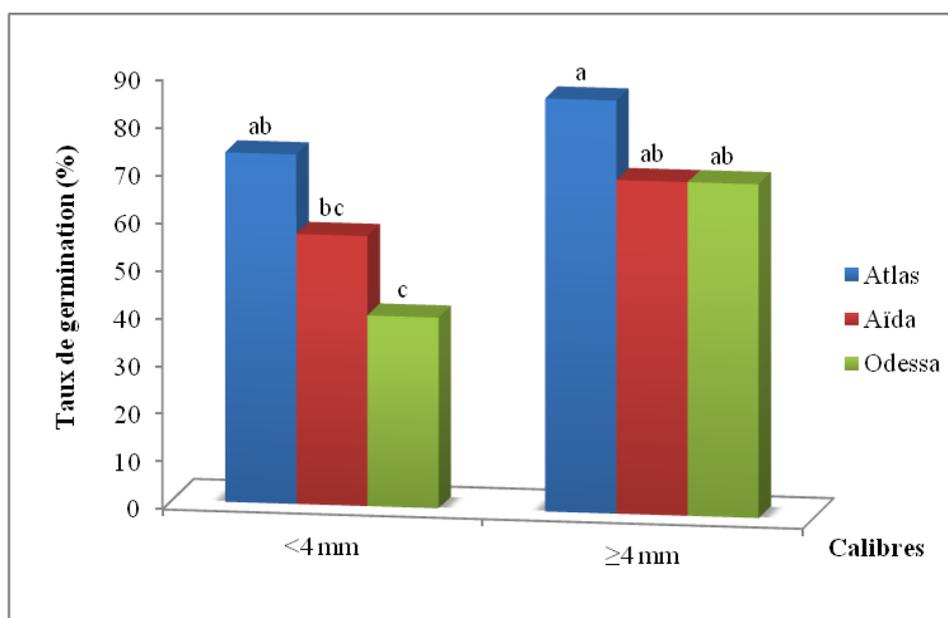


Figure 10. Effet du calibre des microtubercules des variétés Atlas, Aïda et Odessa sur la germination après 8 semaines de culture.

Effectifs : 30 microtubercules / calibre / variété. Pour chaque calibre les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%

La cinétique de germination montre que les microtubercules de la variété Atlas germent plus rapidement que les microtubercules des autres variétés quel que soit le calibre. La variété Aïda, après une germination lente durant les quatre premières semaines, révèle des taux de germination qui augmentent très rapidement. Les microtubercules de la variété Odessa ont un temps de latence faible d'une semaine (Figure 11) puis les microtubercules à calibre supérieur à 4 mm germent rapidement pour atteindre le taux de 70% à 8 semaines. En

revanche, les microtubercules à calibre inférieur à 4mm germent lentement pour atteindre un taux final de germination de 40%, après le même temps d'incubation (Figure 11).

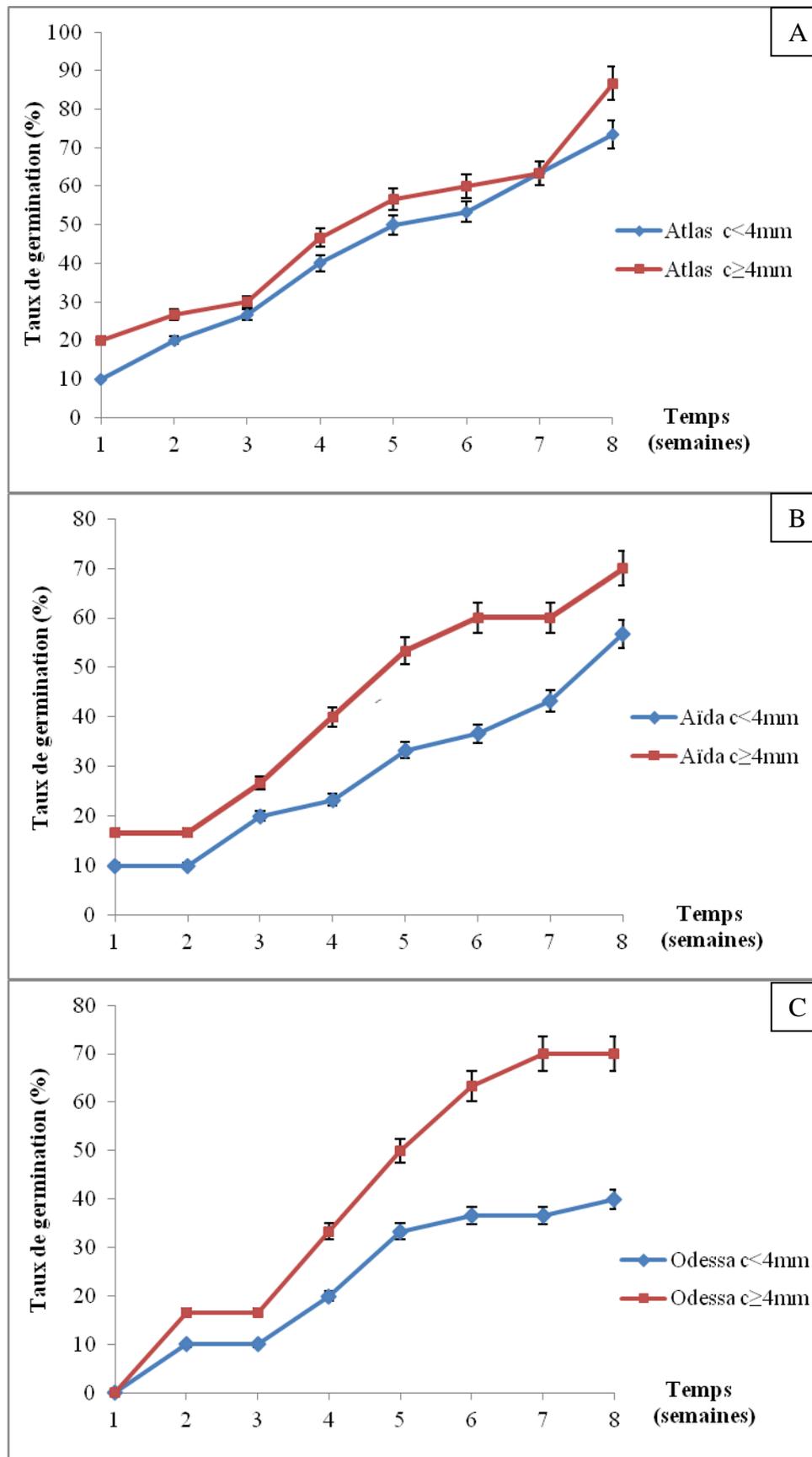


Figure 11. Cinétique de la germination des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) de différents calibres à 25°C.

4. Effet de l'âge physiologique des microtubercules sur la germination

L'influence de l'âge physiologique des microtubercules sur la germination est mise en évidence en évaluant le paramètre longueur des germes obtenus. Ainsi, les stades « germes ramifiés » et « germes multiples » sont les plus aptes à la germination car ils présentent une longueur moyenne des germes supérieure à celle du stade « monogerme » pour toutes les variétés. Cependant, les germes ramifiés sont moins vigoureux que les germes multiples pour toutes les variétés. Le test de Student, Newman et Keuls indique une différence non significative entre les germes multiples et les germes ramifiés. Mais nous notons une différence significative ($P = 5,943$; $F = 0,016$) de ces deux stades comparativement au stade monogerme quelle que soit la variété (Tableau 13).

Tableau 13. Influence de l'âge physiologique sur la germination des microtubercules des différentes variétés de calibre ≥ 4 mm et incubés à 25°C.

Age physiologique	Longueur moyenne des germes (cm)		
	Atlas	Aïda	Odessa
Monogerme	1,3 c	1,1 c	1,5 c
Germes multiples	2,35 a	2,14 b	2,298 ab
Germes ramifiés	2,39 a	2,282 b	2,478 a

Dans une colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de la probabilité $p < 0,05$ (Test de Student, Newman et Keuls).

La croissance des germes en fonction de la durée d'incubation a été étudiée. Ainsi, nous constatons une croissance rapide des «germes multiples» et des «germes ramifiés» tandis que celle du stade monogerme est lente (Figure 12). Pendant les trois premières semaines qui ont suivi la germination, la vitesse de croissance des germes est faible. Elle augmente ensuite, jusqu'à son maximum. Les longueurs moyennes maximales atteintes après 7 semaines d'incubation pour les stades «germes multiples», «germes ramifiés» et monogerme, sont respectivement de 2,35 cm, 2,478 cm et 1,5 cm.

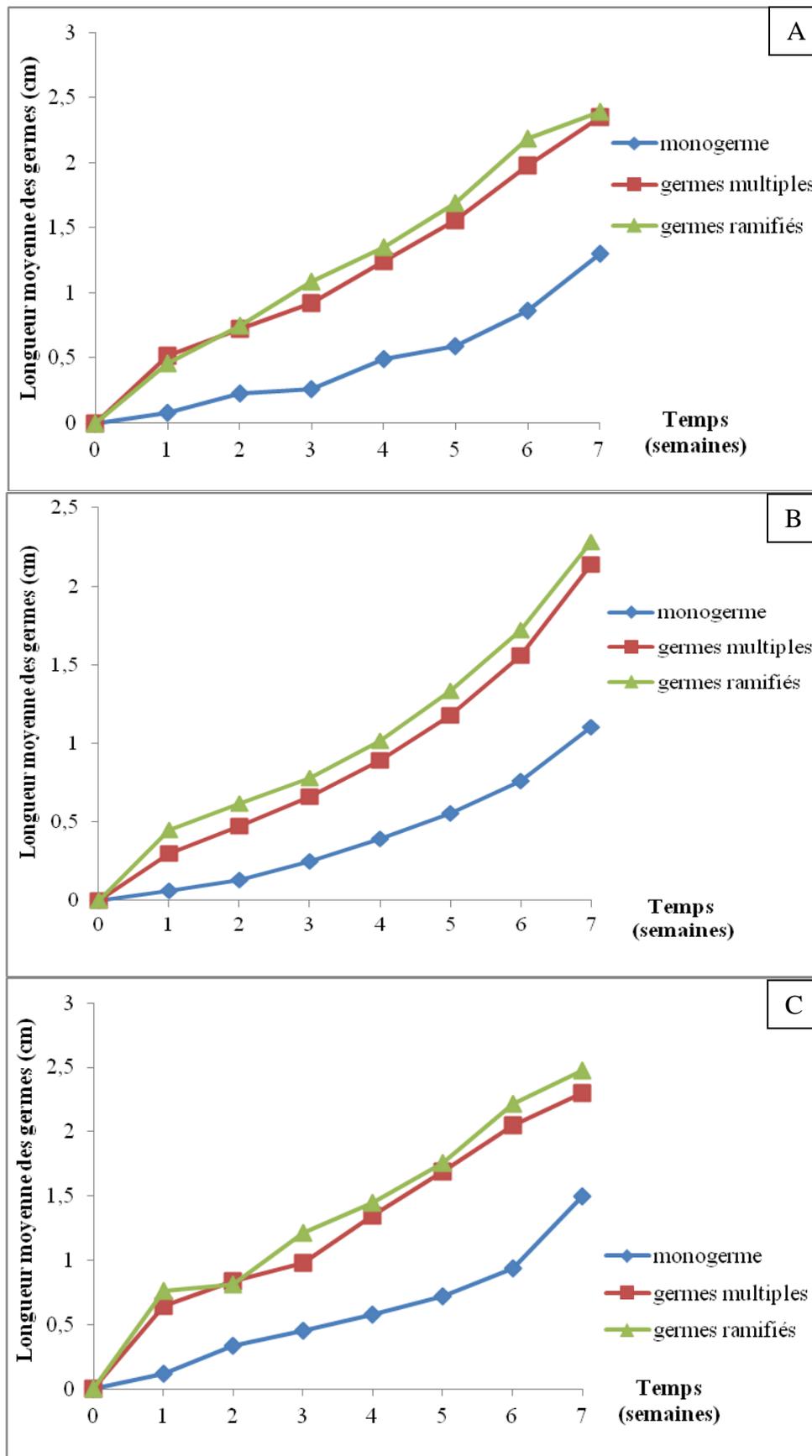


Figure 12. Cinétique de croissance des germes à 25°C des microtubercules des variétés Atlas (A), Aïda (B) et Odessa (C) à différents stades physiologiques.

III. DISCUSSION

1. Effet rémanent des hormones du milieu de tubérisation sur la germination des microtubercules

Nous avons utilisé de fortes concentrations en saccharose (80 g.L^{-1} et 100 g.L^{-1}) pour cette étude, car il s'est révélé que leur l'effet se traduit principalement sur la réduction de la durée de dormance des microtubercules. La dormance est définie par Baskin & Baskin (2004) comme étant la période pendant laquelle la graine est incapable de germer bien que tous les facteurs environnementaux soient favorables. En effet, plus la concentration en saccharose du milieu initial de tubérisation est importante, plus les microtubercules germent rapidement. Cela a été observé avec les variétés Odessa et Aïda. Pour ces dernières, les microtubercules obtenus dans le milieu de culture contenant 100 g.L^{-1} de saccharose ont été utilisés tandis que pour Atlas nous avons utilisé les microtubercules obtenus dans le milieu de culture contenant 80 g.L^{-1} de saccharose. L'utilisation de ces concentrations est en adéquation avec celles utilisées par Désiré *et al.* (1995a) qui constatent qu'en augmentant la concentration en saccharose de 80 à 140 g.L^{-1} lors de la phase de tubérisation, il est possible de réduire de 6 semaines la durée de la dormance des microtubercules de la variété Désirée.

L'influence des hormones sur la germination n'a pas fait l'objet d'une grande étude. La dormance embryonnaire se caractérise par un rapport entre ABA et GA_3 . Ainsi, ABA domine le programme de la dormance et GA_3 celui de la germination (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006). Chinchilla (1985) montre que la GA_3 réduit la période de dormance et favorise la formation des germes très allongés sur des tubercules classiques. Les travaux de Dieng (1993) et ceux de Désiré *et al.* (1995a) confirment que la GA_3 ne permet pas la levée de la dormance des tubercules classiques (Turnbull & Hanke, 1985), mais stimule simplement la germination en fin de cycle de dormance (Mioduszevska & Bielenska-Czarnecka, 1984). Les travaux de Diémé (2006) montrent que l'apport combiné de la kinétine, BAP et 80 g.L^{-1} de saccharose dans le milieu de tubérisation *in vitro* permet une germination plus précoce des microtubercules de la variété Aïda. Ces résultats sont en adéquation avec nos travaux car nous avons trouvé que les microtubercules de la variété Atlas, initialement formés dans le milieu Kinétine 1 mg.L^{-1} + BAP 1 mg.L^{-1} + 80 g.L^{-1} , ont donné un meilleur taux de germination. Chez les variétés Aïda et Odessa, ce sont les microtubercules issus du milieu de tubérisation Kinétine $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ + BAP 1 mg.L^{-1} + 100 g.L^{-1} qui ont donné le meilleur taux avec respectivement 100% et 70%.

La substitution de la BAP par la coumarine dans le milieu de tubérisation a permis de relever le taux de germination de la variété Atlas uniquement à 27°C. Ce taux est passé de 80% à 90%. Tandis que pour les autres variétés, cette substitution n'est pas bénéfique pour toutes les températures. Cependant, ces résultats sont meilleurs que ceux trouvés par Diémé (2006) car nous avons augmenté la concentration de coumarine dans le milieu de tubérisation, ceci pour se conformer à l'étude de Stallknecht (1972) qui montre que la tubérisation réalisée avec une concentration en coumarine de 25-50 mg.L⁻¹ requiert seulement 15 à 20 jours pour obtenir 100% de vitroplants tubérisés et que le processus de tubérisation était optimal. Il observe aussi des microtubercules de plus grosses tailles.

Couillerot (1993) affirme que l'acide gibbérellique est incorporé au métabolisme de la plante et de ce fait, il n'est pas exclu qu'il modifie certains phénomènes physiologiques, en l'occurrence la germination des microtubercules. De la même manière, nous pouvons suggérer que les cytokinines et la coumarine puissent modifier certains phénomènes physiologiques comme la germination des microtubercules.

2. Effet de la température sur la germination des microtubercules

À la récolte, le tubercule de pomme de terre se trouve dans une phase de « repos végétatif » qualifiée de dormance où aucune germination ne peut se produire même dans des conditions environnementales favorables. Il en est de même pour le microtubercule issu de vitroplants. La germination et la croissance des pousses, sous le contrôle des gibbérellines (stimulateurs) et de l'acide abscissique (inhibiteur) principalement, s'accompagnent d'une augmentation de la respiration et d'une perte d'eau, ainsi que d'une importante dégradation de l'amidon et des sucres simples (Burton *et al.*, 1989). La température est l'élément qui contribue le plus à maintenir la qualité des pommes de terre entreposées. Elle influe sur la respiration, la germination, la perte d'eau, l'humidité relative, la composition chimique des tubercules et sur l'apparition de maladies d'entreposage. Les travaux de Désiré *et al.* (1995a) ont montré que le froid permet de raccourcir la durée de la dormance des microtubercules et qu'une conservation à 4°C, avant transfert à 19°C, est également favorable à la germination des microtubercules et ceci quel que soit le temps de tubérisation.

Ces résultats sont en accord avec les nôtres car pour les températures étudiées (25, 27 et 30°C) plus la température est élevée, plus le taux de germination est faible et la vitesse lente. Les températures moyennes, inférieures à 30°C sont plus favorables à la germination des microtubercules puisqu'un excès de chaleur produit des germes trop développés, alors que des températures très froides produisent des déformations du tubercule. En effet, pour toutes les variétés, la température la plus favorable à la germination des microtubercules est celle de 25°C suivie de 27°C. Ces résultats permettent d'affirmer que les températures moyennes d'incubation sont beaucoup plus favorables à la germination que les températures élevées. Ces résultats confortent ceux de Bryan (1990) qui affirme que la température adéquate de germination des tubercules se situe entre 18 et 25°C. De même, selon Ellisseche (2008), lorsqu'un tubercule est placé dans des conditions environnementales favorables (16-20°C, 60-80% d'humidité relative) aussitôt après la fin de son repos végétatif, il commence à germer.

3. Effet du calibre des microtubercules sur la germination

La germination est une succession de phénomènes morphologiques, physiologiques et biochimiques qui ont pour conséquence la transformation de l'embryon en un germe. La formation des organes de la future plante, comme les feuilles, la tige et les racines a lieu à la suite de la division et de la croissance des cellules de l'embryon. Elle est basée sur une série de transformations chimiques et physiques du niveau supérieur d'organisation et d'intégration (Camelia *et al.*, 2011). Le processus de la germination est génétiquement programmé et modulé par l'environnement. Ainsi, lorsqu'un tubercule est placé dans les conditions d'environnement favorables, le nombre de germes formés est d'autant plus élevé que le calibre et le poids des tubercules sont importants (Mikou *et al.*, 2003). Désiré *et al.* (1995b) supposent que la vigueur germinative des microtubercules dépend du calibre. En effet, lorsque le calibre augmente, le pool de réserves, en particulier glucidiques, est important et pourrait être ainsi favorable au développement de la plante. De plus, selon Lakhoua & Ellouze (1990) la levée des microtubercules est fonction du calibre ; les microtubercules à calibre supérieur à 5 mm, quel que soit le temps de stockage, présentent une levée supérieure à celle des microtubercules à calibre inférieur.

Ces résultats sont en adéquation avec les nôtres car l'étude du calibre des microtubercules sur la germination a révélé que les microtubercules à calibre supérieur à 4 mm germent plus rapidement avec un taux de germination plus élevé que les microtubercules

à calibre inférieur à 4 mm pour tous les génotypes étudiés. De même, les germes des microtubercules à petit calibre mettent plus de temps, pour atteindre une longueur maximale, que ceux des microtubercules à gros calibre.

Le taux de germination inférieur à 100% obtenu, peut s'expliquer par un temps de conservation insuffisant (3 mois) des microtubercules. En effet, selon Lakhoua & Ellouze (1990), le temps de stockage influe sur la levée de la dormance des microtubercules. Ainsi, un temps de conservation de 1 à 4 mois favorise moins la levée qu'un temps de 5 à 7 mois tandis qu'un temps supérieur à 8 mois, induirait une diminution de la levée de dormance.

4. Effet de l'âge physiologique sur la germination des microtubercules

Le tubercule semence de pomme de terre est considéré comme un organe modèle pour étudier le vieillissement végétal (Kumar & Knowles, 1996 ; Kumar *et al.*, 1999 ; Coleman, 2000 ; Zabrouskov *et al.*, 2002) . De plus, son âge physiologique influence son profil de germination et ses performances agronomiques. L'état physiologique du tubercule mère influe non seulement sur la germination, la rapidité et la capacité de croissance des germes, mais aussi sur le développement et la productivité des plantes qui en sont issues (Coleman, 2000). Afin d'évaluer le paramètre «âge physiologique», nous avons mesuré la longueur moyenne des germes qui se sont formés à chaque stade physiologique du microtubercule. Ainsi, une croissance rapide des « germes multiples » et « germes ramifiés » est constatée tandis que celle du stade monogerme est lente. Ces résultats confirment ceux de Pérennec & Madec (1980) qui suggèrent que la vitesse de la germination peut se mesurer, soit par le poids ou la longueur des germes formés dans une unité de temps. D'abord faible dans la période qui suit immédiatement la fin du repos végétatif, elle augmente ensuite progressivement jusqu'au maximum, puis décroît pour devenir nulle quand les germes tubérisent. Vakis (1986) puis Désiré *et al.* (1995c), montrent aussi que plus les tubercules sont physiologiquement âgés, plus la germination est rapide. Lorsque les microtubercules sont physiologiquement jeunes, ils sont soit encore dormants, soit dans une phase de vigueur de germination peu importante. Ensuite, en vieillissant, leur vigueur germinative augmente et, par conséquent, la germination est accélérée. Dans ce même ordre d'idées, Pérennec et Madec (1980) confirment que pendant la phase de dormance, l'incapacité de croître n'est pas nécessairement un caractère propre aux bourgeons, mais peut résulter bien de l'incapacité temporaire du tubercule à fournir certains métabolites nécessaires à la croissance. A la sortie de la dormance, ils sont libérés, rendant

ainsi possible la croissance du germe à partir des seules réserves du tubercule. Cette libération se fait progressivement, permettant, à mesure que le tubercule devient plus âgé physiologiquement, la croissance de plus en plus rapide d'un nombre de plus en plus élevé de germes. Les microtubercules, aux stades « germes multiples » et « germes ramifiés », sont plus aptes à germer que les microtubercules au stade monogerme avec respectivement des longueurs moyennes maximales des germes de 2,35 cm, 2,478 cm et 1,5 cm.

Ces résultats confortent ceux de Reust, 1986 et Coleman, 2000 qui expliquent que l'état physiologique du tubercule à un moment donné, conditionne la croissance végétative. Le stade « monogerme » est caractérisé par une dominance apicale, le stade « germes multiple » par une germination multiple et une croissance rapide des germes et le stade « germes ramifiés » par une ramification des germes qui deviennent chétifs (Johnson, 1997).

IV. CONCLUSION

Le microtubercule est un organe qui s'annonce comme l'un des moyens les plus efficaces, pour la propagation de matériel de base, le transport de germplasma et la conservation des variétés de pomme de terre. Les travaux effectués sur l'influence des facteurs exogènes, de la température, du calibre et de l'âge sur la germination des microtubercules permettent de conclure que :

- la germination dépend du génotype mais aussi de la composition hormonale du milieu de tubérisation. En effet, les microtubercules de la variété Atlas initialement formés dans le milieu M1 [MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹] ont donné un meilleur taux de germination. Chez les variétés Aïda et Odessa, ce sont les microtubercules issus du milieu de tubérisation M4 [MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹] qui ont donné le meilleur taux avec respectivement 100% et 70%. La substitution de la BAP par la coumarine dans le milieu de tubérisation a permis de relever le taux de germination de la variété Atlas uniquement à 27°C. Ce taux est passé de 80% à 90%. Tandis que pour les autres variétés cette substitution n'est pas bénéfique pour toutes les températures ;

- la température moyenne (25°C) favorise la germination des microtubercules avec un meilleur taux et une vitesse de germination plus rapide quelle que soit la variété ;

- les microtubercules à gros calibre (supérieur à 4 mm) germent plus rapidement avec un taux de germination plus élevé que les microtubercules à petit calibre pour tous les génotypes étudiés ;

- l'âge physiologique influence la germination des microtubercules. En effet, la longueur moyenne des germes est plus importante aux stades « germes multiples » et « germes ramifiés » qu'au stade monog germe.

Ainsi, après l'étude de la capacité germinative des microtubercules, il est nécessaire de les mettre à terre en conditions contrôlées pour apprécier le comportement des plants qui y seront issus.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DU CALIBRE DES
MICROTUBERCULES DE POMME DE TERRE
(*Solanum tuberosum* L.) SUR LE RENDEMENT
DES PLANTS EN CONDITIONS
CONTRÔLEES

CHAPITRE IV : INFLUENCE DU CALIBRE DES MICROTUBERCULES DE POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum* L.) SUR LE RENDEMENT DES PLANTS EN CONDITIONS CONTRÔLÉES.

INTRODUCTION

La production de vitrotubercules est facilement réalisable et ne demande aucune infrastructure spéciale puisque la tubérisation *in vitro* peut se réaliser dans une chambre obscure à température ambiante de 19 à 22°C. Les vitrotubercules possèdent un avantage de qualité conféré par une production réalisée en laboratoire, sous conditions aseptiques, sans possibilité d'infection extérieure (Charles *et al.*, 1995 ; Lê, 1995)

Les microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produits *in vitro* sont actuellement utilisés dans de nombreux secteurs de l'agriculture comme matériel pour la recherche (Coleman *et al.*, 2001). En pratique, les gros microtubercules sont préférés parce qu'ils sont faciles à manipuler et qu'ils produisent des plantes vigoureuses (Wiersema *et al.*, 1987). Ils sont en outre moins sujets au dessèchement en conservation, ont une période de dormance courte et un taux de survie élevé lors d'un transfert direct dans le sol (Leclerc *et al.*, 1994). Cet essai a pour but d'examiner l'effet du calibre des microtubercules sur le rendement et la vigueur des plants issus de la germination de ces vitrotubercules en conditions contrôlées.

I. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce chapitre est représenté aussi par les microtubercules des 3 variétés Aïda, Atlas et Odessa, récoltés aseptiquement des différents milieux de tubérisation. Ceux-ci, ont été conservés dans une chambre froide à 4°C pendant 4 mois, période qui correspond à la dormance.

2. Méthodes

Les microtubercules de chaque variété obtenus ont été triés et classés en deux calibres (inférieur à 4mm et supérieur ou égal à 4 mm) puis semés dans des gaines en serre à raison d'un microtubercule par gaine et 10 par calibre et par variété. Un arrosage est effectué tout les deux jours. A la fin du cycle, une récolte a été faite par variété et par calibre. Les minitubercules récoltés ont été pesés puis calibrés.

3. Analyse statistique

Une étude statistique comportant une analyse de la variance et le calcul de la moyenne, est effectuée par le logiciel SPSS version 17.0. L'analyse statistique a porté sur la comparaison des différents calibres à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à un seuil de 5%, suivie d'une comparaison des moyennes (Test de Student, Newman et Keuls).

Les résultats obtenus sont ensuite représentés sous forme de graphiques à l'aide du logiciel EXCEL.

II. RESULTATS

1. Influence du calibre des microtubercules semés sur le développement végétatif

Le développement végétatif des plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm est plus vigoureux que celui des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm chez toutes les variétés. De même, le poids frais de la partie aérienne des plants issus des microtubercules à calibre supérieur 4 mm est plus élevé (Figure 13). Chez les variétés Aïda et Odessa, ce poids est significativement différent ($F = 9,168$; $P = 0,000$) de celui des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. Cependant, chez la variété Atlas il n'y a pas de différence significative entre ces deux poids.

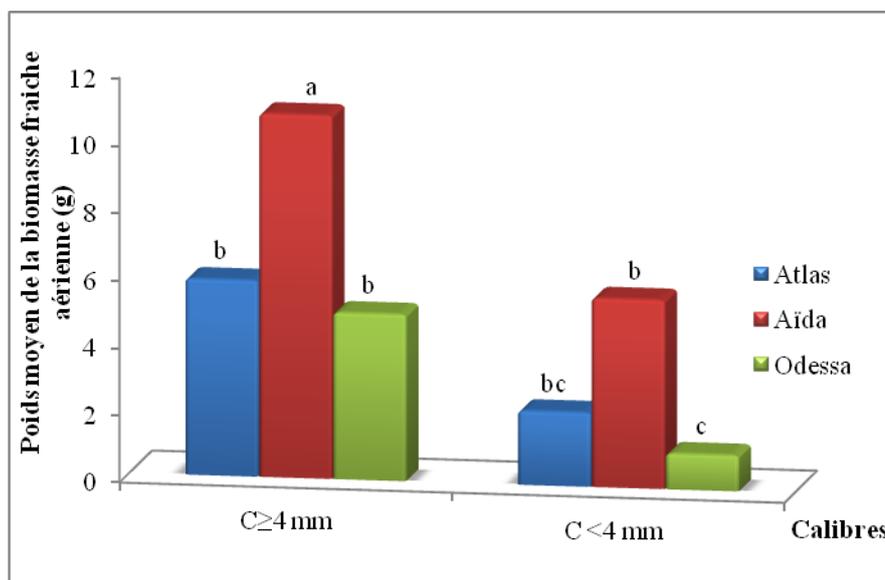


Figure 13. Biomasse fraîche aérienne des plants issus des microtubercules à différents calibres.

Effectifs : 10 plants / calibre / variété. Pour chaque calibre, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.



Planche 14. Aspect morphologique des plants formés à partir des microtubercules (A), des différentes variétés selon le calibre du microtubercule mis à terre (B).
Les chiffres (cm) sur la barre d'échelle représentent une distance réelle de 1cm.

2. Influence du calibre des microtubercules sur le nombre moyen de minitubercules récoltés.

L'influence du calibre des microtubercules sur le rendement des plants obtenu est étudiée. Ainsi, les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm ont donné un nombre de minitubercules récoltés plus élevé. Ce nombre de minitubercules récoltés au calibre supérieur à 4 mm pour les variétés Atlas, Aïda et Odessa est respectivement égal à 18, 32 et 16 minitubercules. Le ratio est aussi respectivement égal à 1,8 ; 3,5 et 2 minitubercules récoltés par microtubercule planté (Figure 14). Le ratio des plants, issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm, des variétés Atlas et Odessa, est significativement différent ($F = 5,923$; $P = 0,000$) de celui des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. Cependant, pour la variété Aïda, le test de Student, Newman et Keuls indique qu'il n'y a pas de différence significative du rendement des plants issus des microtubercules à calibre supérieur ou inférieur à 4 mm.

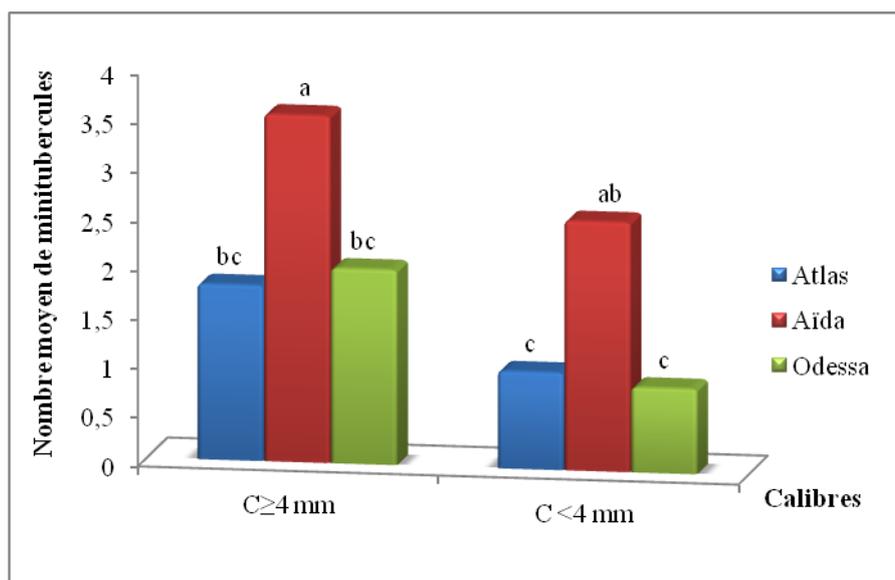


Figure 14. Effet du calibre sur le nombre moyen de minitubercules.

Effectifs : 10 plants / calibre / variété. Pour chaque calibre des microtubercules, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

Le nombre de minitubercules formés des plants dépend aussi de la variété car nous avons constaté un nombre plus élevé chez Aïda (58 microtubercules) que chez les autres variétés. Cette variété est suivie de celle d'Atlas (26) qui, malgré l'absence de germination de deux microtubercules, a eu un nombre plus élevé que celui d'Odessa (23). (Planche 14 et Tableau 14)

Tableau 14. Nombre de minitubercules récoltés par calibre et par variété.

Variétés	Nombre de minitubercules/Calibre	
	≥ 4 mm	< 4 mm
Atlas	18	8
Aïda	32	26
Odessa	16	7

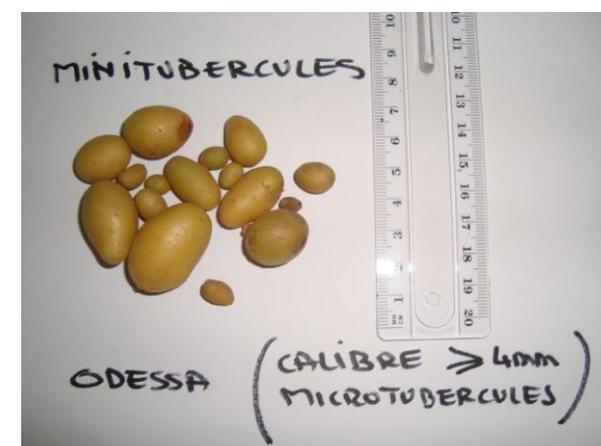
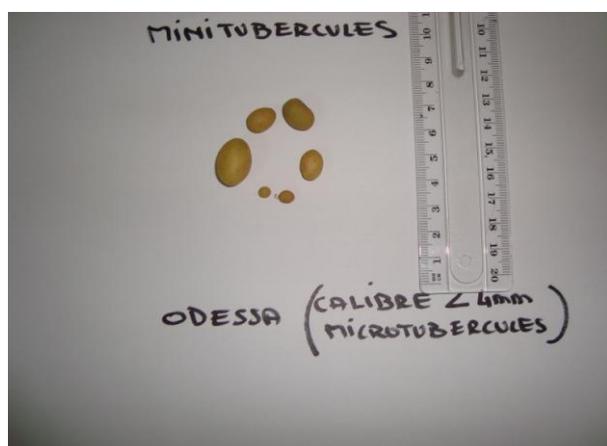
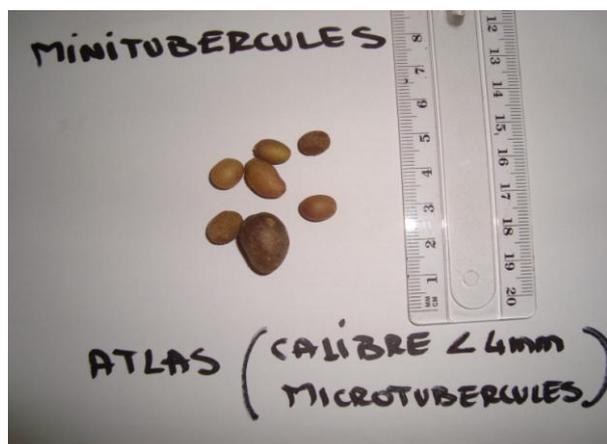
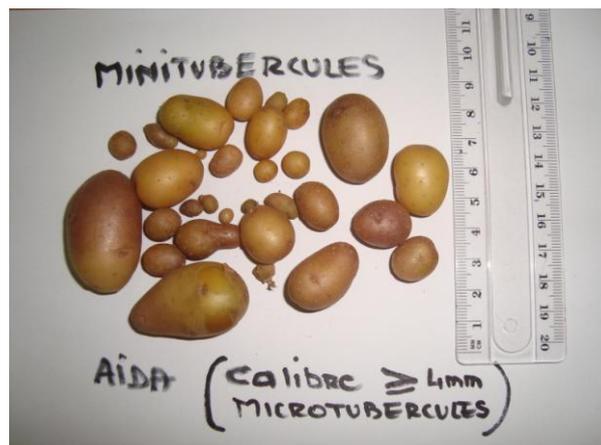
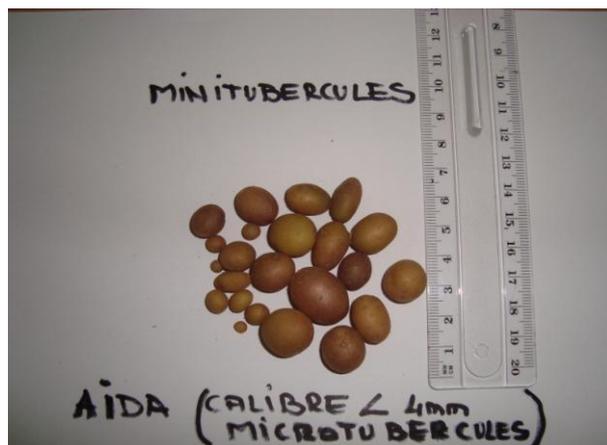


Planche 15. Aspect morphologique des minitubercules des trois variétés récoltés des plants issus des microtubercules de différents calibres (< 4 mm et ≥ 4 mm) après leur fin de cycle.

3. Influence du calibre des microtubercules semés sur le poids moyen des minitubercules récoltés

Cette étude nous montre que le poids moyen des minitubercules récoltés par plant est plus élevé chez les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm pour toutes les variétés (Figure 15). Ce poids est significativement différent ($F = 3,820$; $P = 0,006$) pour les variétés Atlas et Odessa, tandis que pour la variété Aïda, ce poids n'est pas significativement différent de celui des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. La variété Aïda semble être la meilleure car elle a donné le poids moyen par plant le plus élevé.

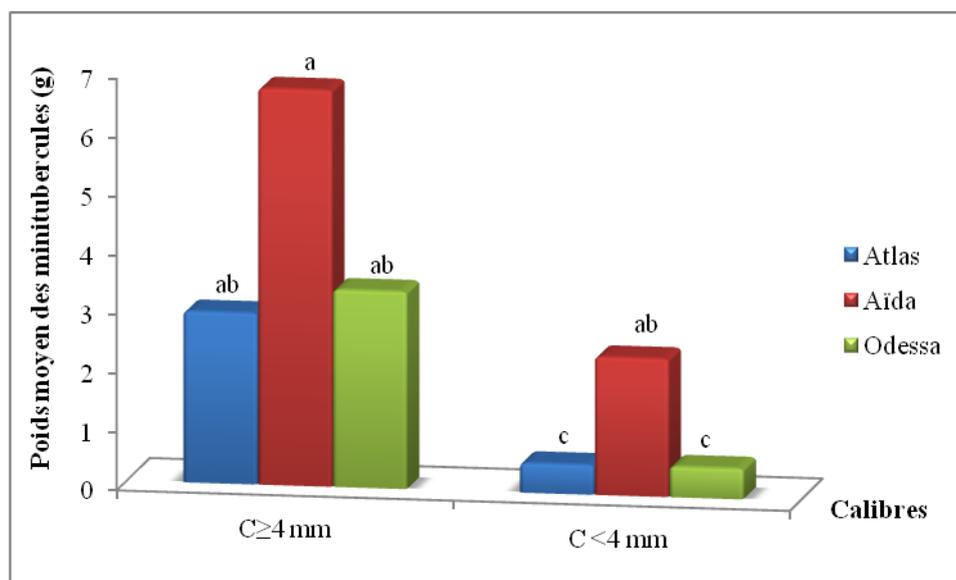


Figure 15. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse fraîche des minitubercules récoltés.

Effectifs : 10 plants / calibre / variété. Pour chaque calibre des microtubercules, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

4. Effet du calibre des microtubercules semés sur le calibre moyen des minitubercules récoltés

Cette étude a révélé que, pour toutes les variétés, le calibre moyen des minitubercules des plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm est plus élevé que celui des minitubercules des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. Le calibre moyen des minitubercules de la variété Odessa est plus élevé que celui des autres variétés. Cependant, ce calibre n'est pas significativement différent des autres variétés selon le test de Student, Newman et Keuls (S-N-K). Pour les minitubercules des plants issus des microtubercules à calibre inférieur 4 mm, c'est la variété Aïda qui a donné les plus gros minitubercules. Cependant, ce résultat comme précédemment, n'est pas significativement

différent de celui des autres variétés (Figure 16). Le calibre moyen des minitubercules des plants des variétés Atlas et Odessa, issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm, est significativement différent ($F = 4,246$; $P = 0,003$) de celui des minitubercules des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm.

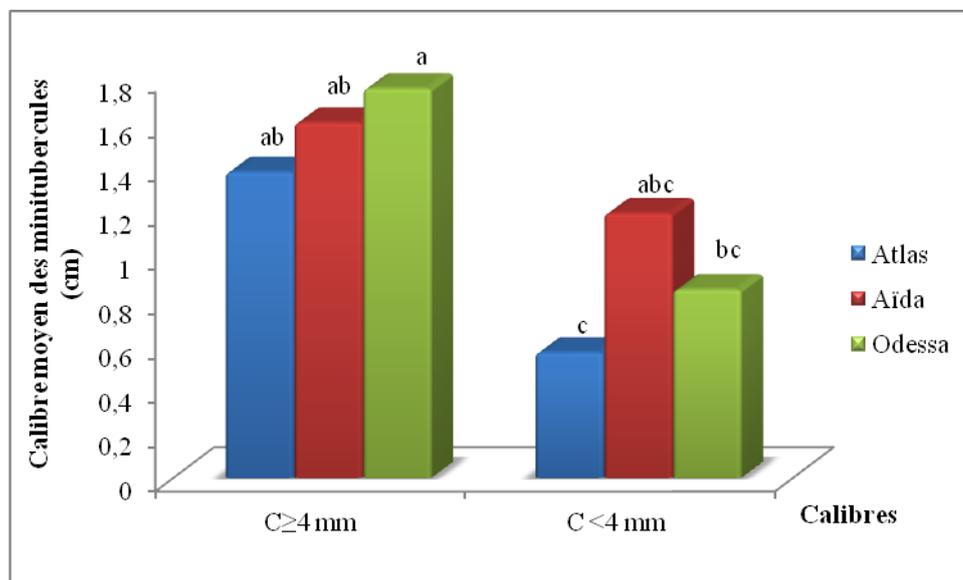


Figure 16. Effet du calibre des microtubercules semés sur le calibre moyen des minitubercules récoltés.

Effectifs : 10 plants / calibre / variété. Pour chaque calibre des microtubercules, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

5. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche aérienne

Le test de S N K a montré que la biomasse sèche aérienne de ces trois variétés dépend du calibre des microtubercules semés. Ainsi, les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm ont donné une biomasse sèche supérieure à celle des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. Le calibre des minitubercules des plants, issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm, est significativement différent ($F = 10,438$; $P = 0,000$) à celui des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm, pour toutes les variétés. La variété Aïda, avec un rendement plus élevé en nombre de minitubercules formés (32), a donné une biomasse plus élevée que celle des autres variétés pour le même calibre.

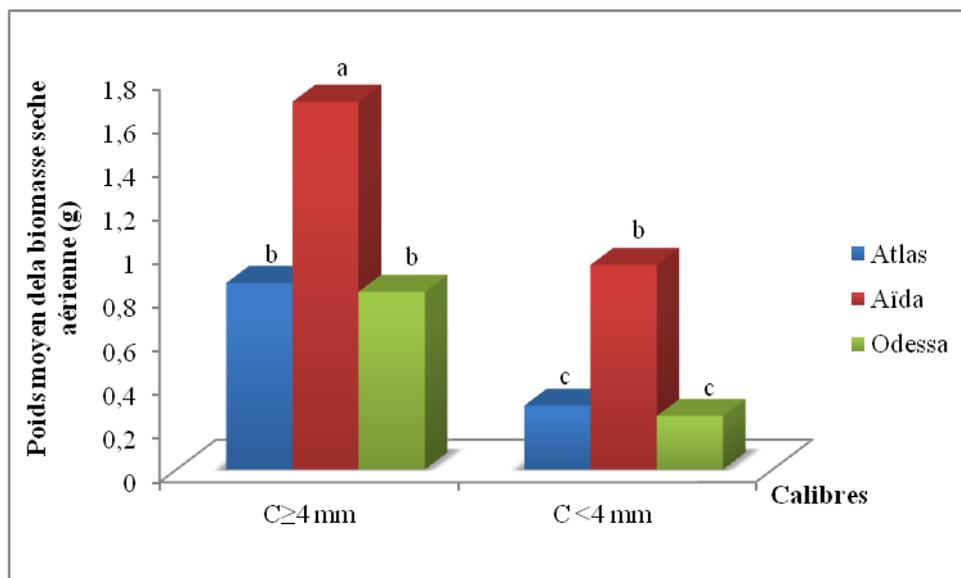


Figure 17. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche aérienne. Effectifs : 10 plants / calibre / variété. Pour chaque calibre des microtubercules, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

6. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche des minitubercules récoltés

La biomasse sèche, des minitubercules des plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm, est plus élevée que celle des minitubercules des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm, pour toutes les variétés (Figure 18). Les minitubercules des plants de la variété Aïda, issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm, ont donné la biomasse la plus élevée avec 0,82 g. Cette dernière est significativement différente ($F = 5,285$; $P = 0,001$) de celle de toutes les autres variétés. La biomasse sèche des minitubercules des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm n'est pas significativement différente pour toutes les variétés (Figure 18).

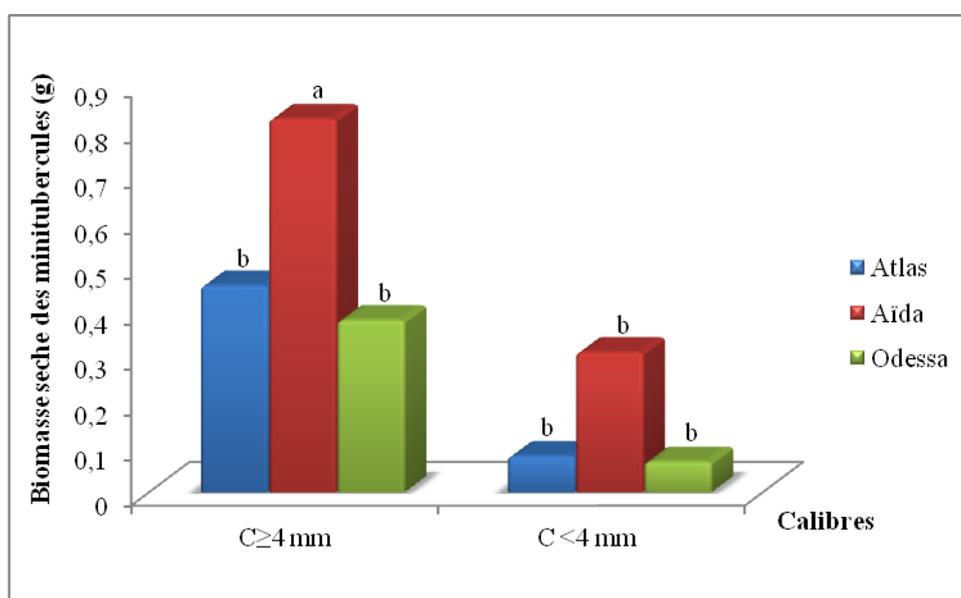


Figure 18. Effet du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche des minitubercules récoltés. Effectifs : 10 plants / calibre / variété. Pour chaque calibre des microtubercules, les lettres a et b indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

III. DISCUSSION

Le développement végétatif, le diamètre, le poids et le nombre des minitubercules récoltés en serre sont influencés par le calibre des microtubercules semés.

1. Effet du calibre des microtubercules semés sur le développement végétatif

Le développement végétatif des plants est influencé par le calibre des microtubercules mis en terre mais aussi par le génotype. En effet, plus le calibre du microtubercule est gros, plus la plante issue de ce dernier a un développement végétatif vigoureux. Ainsi, pour toutes les variétés, les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm sont plus vigoureux que ceux des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm. Ce résultat peut s'expliquer par la quantité de réserves contenue dans le microtubercule et destinée au développement des germes mais aussi des futurs plants. Cette étude confirme celle de Wiersema *et al.* (1987) qui montre que les gros microtubercules produisent des plantes vigoureuses. Cependant, les plants de la variété Aïda sont beaucoup plus vigoureux que ceux des autres variétés. Cette remarque confirme que le développement végétatif est fonction du génotype.

2. Effet du calibre des microtubercules semés sur le nombre moyen de minitubercules récoltés

Le développement végétatif des plants a une conséquence sur le rendement car nous avons obtenu, chez la variété Aïda, un nombre moyen de 3,55 minitubercules récoltés par plant issus des microtubercules à calibre supérieur à 4mm contre 2,55 pour ceux issus des microtubercules à calibre inférieur à 4mm. Pour les variétés Atlas et Odessa, les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm ont un ratio plus élevé que celui des plants issus de petits calibres. Ainsi, Atlas et Odessa ont donné respectivement un ratio de 1,8 et 2 pour les diamètres supérieurs à 4 mm contre 1 et 0,87 pour les diamètres inférieurs. Ces données corroborent les résultats de Désiré *et al.*, 1995b qui expliquent que, plus le diamètre des microtubercules mis en terre est important, plus le nombre de minitubercules récoltés par plant est élevé. Ces résultats ne semblent pas valables dans le cas de tubercules classiques de taille plus importante. En effet, O'Brien et Allen (1992) ont montré que les plants issus de

petits tubercules ($12,5 \pm 2,5$ g) produisent en général plus de tiges et de tubercules et donnent un rendement meilleur que les gros tubercules ($37 \pm 2,5$ g) pour une densité de plantation équivalente.

3. Effet du calibre des microtubercules semés sur le poids et le calibre moyen des minitubercules récoltés

L'influence du calibre des microtubercules mis en terre sur le poids et le calibre des minitubercules récoltés a été mise en évidence. Chez la variété Aïda, nous avons obtenu un poids moyen et un calibre moyen de minitubercules supérieurs chez les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm. Ce même constat a été fait chez les variétés Altas et Odessa. Les travaux de Lakhoua & Ellouze (1990) confortent les nôtres, en montrant une corrélation entre la vigueur des plants cultivés et le calibre des microtubercules récoltés. En effet, les plants les plus vigoureux donnent des microtubercules plus homogènes et d'un calibre supérieur à 5 mm. Désiré *et al.* (1995b) montrent que l'effet calibre, responsable d'une grande variation dans le rendement, peut s'expliquer par l'état physiologique du matériel au moment de la plantation. En effet, Désiré *et al.* (1995a) ont montré que la durée de la dormance est corrélée à la taille des microtubercules. De la même manière, la vigueur germinative est modifiée et le rendement final est tributaire du calibre. En effet, lorsque le diamètre des microtubercules augmente, le pool de réserves, en particulier glucidiques, est plus important et pourrait être ainsi plus favorable au développement de la plante et au rendement final (Désiré *et al.*, 1995b).

4. Influence du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche aérienne

Au cours de nos essais en conditions contrôlées, nous avons pu vérifier l'importance du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche aérienne. Il y a une corrélation entre le développement végétatif des plants et la biomasse sèche. En effet, les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm, ayant un développement végétatif important, ont une biomasse supérieure. Ce résultat peut s'expliquer par le pool de réserves contenues dans les microtubercules à gros calibre, permettant le développement harmonieux des plants. Ce développement est aussi fonction de la photosynthèse qui permet la production de substances organiques nécessaires à la croissance.

5. Influence du calibre des microtubercules semés sur la biomasse sèche des minitubercules récoltés

Les minitubercules sont des tubercules de pommes de terre obtenus, au départ, des vitroplants ou vitrotubercules dans une condition contrôlée. Les plants issus des microtubercules à gros calibre ont donné une biomasse sèche des minitubercules plus élevée. Ce résultat s'explique par la vigueur des plants issus de ce calibre. Selon Rolot *et al.*, 2002 l'enrichissement de la solution nutritive en phosphore induit un accroissement du nombre de minitubercules produits de calibre supérieur à 15 mm (> 5 g). De même, un milieu nutritif de base contenant 100 mM d'azote sous forme de NH_4NO_3 permet le grossissement des tubercules (Lê & Thomas 2009). Nous pouvons supposer que le gros calibre contient d'importants éléments nutritifs qui influent sur la biomasse sèche des minitubercules récoltés.

IV. CONCLUSION

L'effet du calibre des microtubercules semés sur le rendement des plants se traduit par une augmentation du ratio, du développement végétatif des plants, mais aussi du nombre et du calibre des minitubercules récoltés. Ainsi, les plants issus des microtubercules à calibre supérieur à 4 mm sont plus vigoureux et ont donné des minitubercules avec un nombre, un poids moyen, un calibre et une biomasse sèche plus élevés que ceux des plants issus des microtubercules à calibre inférieur à 4 mm.

L'utilisation des microtubercules comme semences nécessite que le calibre soit gros pour éviter le dessèchement, mais surtout pour augmenter le rendement des plants qui y seront issus.

**CONCLUSION GENERALE
&
PERSPECTIVES**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'étude des facteurs exogènes et de l'âge physiologique des microtubercules sur la germination relève d'une importance capitale pour les agriculteurs des pays en voie de développement qui ont des difficultés de semences, dans la filière pomme de terre. En effet, la maîtrise de ces facteurs permettrait de rentabiliser cette filière en utilisant les microtubercules comme semences afin d'augmenter les rendements.

Les résultats de cette étude montrent que la microtubérisation des microboutures nécessite un apport important de saccharose et de régulateurs de croissance. Elle est plus précoce lorsque le milieu de culture est enrichi en cytokinines. Une augmentation de la concentration en Coumarine, dans le milieu de tubérisation, favorise une tubérisation importante mais aussi un calibre élevé.

La germination des microtubercules dépend du génotype, mais aussi de la composition hormonale du milieu de tubérisation. En effet, les microtubercules de la variété Atlas, initialement formés dans le milieu MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹, ont donné un meilleur taux de germination. Chez les variétés Aïda et Odessa, ce sont les microtubercules issus du milieu de tubérisation MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹ qui ont donné le meilleur taux avec respectivement 100% et 70%. La substitution de la BAP par la coumarine, dans le milieu de tubérisation, a permis de relever le taux de germination de la variété Atlas uniquement à 27°C. Ce taux est passé de 80% à 90%. Tandis que pour les autres variétés, cette substitution n'est pas bénéfique pour toutes les températures.

Les températures moyennes (25°C et 27°C) sont plus favorables à la germination. En effet, 85% de germination a été obtenu pour les variétés Atlas et Aïda et 65% pour la variété Odessa à 25°C. A cette dernière température, la vitesse de germination est rapide comparée aux autres températures (27 et 30°C). Une augmentation de la température de germination a entraîné une réduction du taux de germination. Un excès de chaleur produit des germes trop développés, alors que des températures très froides produisent des déformations du tubercule.

L'âge physiologique influence la germination des microtubercules. Les microtubercules, aux stades « germes multiples » et « germes ramifiés », sont plus aptes à germer. Ainsi, il est nécessaire de mettre à terre les microtubercules au stade « germes

multiples » ou « germes ramifiés » pour optimiser le rendement des plants issus de ces germes.

Les microtubercules à gros calibre donnent un rendement élevé. Le calibre des microtubercules semés permet d'améliorer le rendement des plants en augmentant le ratio, le développement végétatif des plants, mais aussi le nombre et le calibre des microtubercules récoltés. Les résultats de cette étude montrent que le rendement des plants dépend de la variété de pomme de terre, mais aussi du ratio des plants et du calibre des microtubercules mis à terre.

Ces résultats, dans leur globalité, permettent donc d'envisager la possibilité d'une multiplication en masse de microtubercules dont la capacité germinative est non seulement importante, mais avec des plantes qui ont un développement et une croissance synchrones. De ce fait, on peut les utiliser comme semences pour augmenter la production agricole dans les pays en voie de développement.

Par ailleurs, ils ouvrent de nouvelles perspectives de recherche notamment dans le cadre de la sélection et de l'amélioration des plantes maraîchères.

Concernant l'amélioration de la pomme de terre, il est envisageable d'améliorer la nutrition des plants *in vitro* par la substitution des milieux de culture chimiques par ceux confectionnés à partir des résidus des végétaux, d'en expliquer les effets inductifs de l'organogenèse tout en contribuant à la réduction du coût économique d'une part et au recyclage et la valorisation des déchets d'autre part.

Il est également envisageable d'utiliser des outils modernes comme les mutations génétiques pour réduire la contrainte de la période froide très courte durant laquelle le plant de pomme de terre tubérise, mais aussi pour réduire la dormance des microtubercules qui pose toujours un problème.

Sur les variétés ciblées, qui produisent suffisamment de microtubercules, il faudrait effectuer une caractérisation biochimique corrélée à la tubérisation (dosage des protéines solubles totales, teneurs en saccharose, en amidon, contenu en vitamines) et faire des tests en rapport avec le stress hydrique. Cela permettrait de mieux disposer d'indicateurs de leur

qualité physiologique et de critères d'évaluation pour leur aptitude à la production de minitubercules.

Le transfert des minitubercules au champ est aussi envisageable afin d'obtenir des semences pour les producteurs de notre pays et lever ainsi la contrainte de l'approvisionnement en semences de qualité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbot A.J. & Belcher. A. R., 1986.** Potato tuber formation *in vitro*. In: *Plant Tissue Culture and its Agricultural. Application*. Withers L. A. & Alderson P. G. (eds.), Butterworths **11**: 113-122.
- Akita M., Takayama S., 1994.** Induction and development of potato tubers in a jar fermentor. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **36**: 177-182.
- Allen A.J., Bean J.N. & Griffith R.L., 1978.** Effets of low temperature on sprout growth of several potato varieties. *Potato Res.* **21**: 249-256.
- Anonyme., 2001.** Variétés. Le jardin naturel. Festival des variétés de pomme de terre: [www.elboura .ma](http://www.elboura.ma).
- Arakawa T., Yu J & Langridge W.H., 1999.** Food plant-delivered cholera toxinB subunit for vaccination and immunotolerization. *Adv. Exp. Med. Biol.* **464**: 161-178.
- Banfalvi Z., Molnar A., Lakatos L., Hesse H. & Hofgen R., 1999.** Differences in sucrose to starch metabolism of *Solanum tuberosum* and *Solanum brevidens*. *Plant Sci.* **147**: 81-88.
- Banfalvi Z., Molnar A., Kostyal Z., Lakatos L. & Molnar G., 1997.** Comparative studies on potato tuber development using an *in vitro* tuber induction system. *Acta Biol Hung.* **48** (1):77-86.
- Barker W.G., 1953.** A method for the *in vitro* culturing of potato tubers. *Science* **118**: 384.
- Baskin JM. & Baskin CC., 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* **14**: 1-16.
- Belguendouz A., 2012.** Essai de substitution des milieux de culture en micropropagation et la physiologie de la microtubérisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Mémoire de Magister en science Agronomique*, UABBT/Algerie., 125p.
- Belleti P., Lanter S., Lotito & Saracco F., 1994.** Production of potato micro-tubers through *in vitro* culture. *Acta Hort. Seed Res. Hort.* **V**: 141-149.
- Beniest J., 1983.** Complément du cours photocopié de maraîchage II. La pomme de terre. C.D.H. : 35-43.
- Bernhards U., 1998.** La pomme de terre *Solanum tuberosum* L. Monographie. Institut National Agronomique Paris – Grignon.

- Bizarri M., Borghi L. & Ranalli P., 1995.** Effects of activated charcoal effects on induction and development of microtubers in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann. Appl. Biol.* **127**: 175-181.
- Booth A., 1963.** Role of growth substances in development of stolons. *In: The Growth of potato.* Ivins J. D. & Milthorpe N. L. (eds.). Butterwoths, London, 99-113.
- Bretauudeau A., 2006.** Les techniques de culture *in vitro* et la micropropagation des espèces végétales., IPR/Kolibougou Koulikoro B P 06.
- Bryan J.E., 1990.** Rupture de la dormance des tubercules de pomme de terre. *Guide de recherche du C.I.P.* 16, 13p. Cambridge University Press, Cambridge, (U.K.), pp. 41-45.
- Burton W.G., 1989.** The potato. Longman Scientif & Technical, Harlow, England: 365-522.
- Burton W.G., 1966.** The potato. A survey of its history and of factors influencing its yield, nutritive value, quality and storage. *Wageningen, The Netherlands: H. Weeman & Zonen N.V.*, 382.
- Camelia F.T., Morar G., Teodora F. & Moldovan C., 2011.** Research regardind the influence of the caliber and the seeds treatment on the seeds germination in interaction with the genotype. Scientific Papers, UASVM Bucharest, Series A, Vol. LIV, 2011, ISSN 1222-5339
- Charles G., Rossignol L. & Rossignol M., 1995.** Applications d'un modèle de développement et de tubérisation synchrones chez la pomme de terre cultivée *in vitro*. Evolution d'activités enzymatiques. *Acta Bot. Gallica* **142**: 321-331.
- Chérif A., 1972.** Métabolisme des lipides dans le tubercule de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). 2. Evolution des lipides au cours de la 'survie' de rondelles de parenchyme de tubercules de pomme de terre. *Potato Res.* **16** (2): 148-158
- Chinchilla C.M., 1985.** Efecto de la temperatura de almacenamiento y de algunas sustancias químicas en la interrupcion del reposo de tuberculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cv. Atzimba. Agro. Costarr.*, **9** (2): 187-191.
- Claver F.K., 1975.** Influence of temperature during the formation of potato tubers and its effects on the first progeny, *Phyton* **33**: 1-6.
- Coleman W.K., Donnelly D.J., Coleman S.E., 2001.** Potato microtubers as research tools: A Review. *Amer. J. Potato Res.* **78**: 47-55.
- Coleman W.K., 2000.** Physiological ageing of potato tubers: a review. *Ann. Appl. Biol.* **137**(2): 189-199.
- Coleman W.K. & Coleman S.E., 2000.** Modification of potato microtuber dormancy during induction and growth *in vitro* or *ex vitro*. *Amer. J. potato res.* **77**: 103-110.

- Coleman S. & Levy D., 1993.** Effect of photoperiod on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). Seabrook JEA, *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* **34**: 43-51.
- Couillerot J.P., 1993.** Effects and distribution of ¹⁴C-gibberellic acid after application to seed potato microtubers. *Phyton* **54** : 67-73.
- Delaplace P., 2007.** Caractérisation physiologique et biochimique du processus de vieillissement du tubercule de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) (thèse de doctorat). Gembloux, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, 171 p., 19 tabl., 69 fig.
- Désiré S., Couillerot J.P. & Vasseur J., 1995.** Germination en serre des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produit *in vitro* : influence du diamètre, de la densité de la plantation et de l'âge des microtubercules sur le rendement. *Acta Bot.* **142** (4): 379-387.
- Désiré S., Couillerot J.P., Hilbert J. L. & Vasseur J., 1995a.** Dormance et germination des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produit *in vitro* : effets de la concentration en saccharose du milieu de tuberisation, de la durée de conservation à 4°C et d'un traitement avec de l'acide gibbérellique. *Acta Bot.* **142** (4): 371-378.
- Désiré S., Couillerot J.P., Hilbert J.L. & Vasseur J., 1995b.** Protein changes in *Solanum tuberosum* during *in vitro* tuberization of nodal cuttings. *Plant Physiol. Biochem.* **33** (3): 303-310.
- Désiré S., Couillerot J.P., Hilbert J.L. & Vasseur J., 1995c.** Protein changes in *Solanum tuberosum* L. during storage and dormancy breaking of *in vitro* microtubers. *Plant Physiol. Biochem.* **33** (4): 479-487.
- Désiré S., 1993.** Dormance et germination de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produits *in vitro*. Recherche de marqueurs de l'âge physiologique. *Thèse*, Lille, 119 p.
- Diémé A., Sagna M. & Sy M.O., 2011.** Influence of hormonal treatments and of sucrose on the microtuberization of three potato varieties (*Solanum tuberosum* L.) adapted to agroclimatic conditions in Senegal. *Inter. J. Plant, Anim. Environ. Sci.* **1**: 68-77
- Diémé A., 2006.** Influence des traitements hormonaux et du saccharose sur la capacité germinative des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) après conservation au froid. *Mémoire de DEA*, UCAD/FST/BV., 74 p.
- Dieng A., 1993.** Micropropagation et microtubérisation de deux variétés de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L) adaptées aux conditions agroclimatiques du Sénégal. *Mémoire de DEA*. FST/BV/UCAD, 84 p.
- Doré C., Varoquaux F., Coordinateur., 2006.** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées –INRA.

- Ducreux G., De Buyser J., Dodeman V. & Haïcour R., 1998.** Recherches récentes et biotechnologies de la multiplication végétative. *Cahiers Agric.* **7**: 447-458.
- Ellissèche D., 2008.** Production de pomme de terre; quels défis pour aujourd'hui et pour demain?
- Emilson B., 1949.** Studies on the rest period and dormant period in the potato tuber. *Acta Agric. Suecana* **3**: 189-284.
- Endale G. & Sathyanarayana. B.N., 2001.** Tapioca a new and cheaper alternative to agar for direct *in vitro* shoot regeneration and microtuber production from cultures of potato. *Afric. Crop Sci. J.* **9** (1) : 1-8.
- Estrada R., Tovar P. & Dodds J.H., 1986.** Induction of *in vitro* tubers in a broad range of potato genotypes. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* **3**: 3-10.
- Ewing E.E., 1995.** Cuttings as simplified models of the potato plant. In: *Potato physiology* P. H. LI (ed.), Academic Press, Orlando, 154-207.
- Fauconnier M.L., Rojas-Beltran J., Delcarte J., Dejaeghere F., Marlier M. & DuJardin P., 2002.** Lipoxygenase pathway and membrane permeability and composition during storage of potato tubers (*Solanum tuberosum* L. cultivars Bintje and Désirée) in different conditions. *Plant Biol.* **4** (1): 77-85.
- Finch-Savage W.E. & Leubner-Metzger G., 2006.** Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* **171**: 501–523
- Garner N. & Blake J., 1989.** The induction and development of potato microtubers *in vitro* on media free of growth regulating substances. *Ann. Bot.* **63**: 663-674.
- Goodwin P.B. & Adisarwanto. T., 1980.** Propagation of potato by shoot tip culture in petri dishes. *Potato Res.* **23** (4): 445-448.
- Goodwin P.B., 1966.** An improved medium for the rapid growth of isolated potato buds. *J. Exp. Bot.* **17**: 590-595.
- Gopal J., Minocha J.L., Dhaliwal H.S., 1998.** microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Rep.* **17**: 794-798.
- Gopal J., Minocha J., Sidhu J., 1997.** Comparative performance of potato crops raised from microtubers induced in the dark versus microtuber induced in light. *Potato Res.* **40**: 407-412.
- Guinazu M. & Tizio R., 1990.** Nouvelles recherches sur l'effet du saccharose et de l'acide gibbérellique sur l'évolution de l'incubation de germes de pomme de terre cultivé *in vitro*, et leur incidence sur d'autres phénomènes morphophysologiques. *Revue : Comptes rendus des séances de la société de Biologie et ses filiales.* **184**: 140-149.
- Harkett P.J., 1981.** External factor affecting length of dormant period in potato. *J.Sci. Food Agric.* **34**: 102-103.

- Hartmans K.J. & Van Loon C.D., 1987.** Effect of physiological age on growth vigour of seed potatoes of two cultivars. I. Influence of storage period and temperature on sprouting characteristics. *Potato Res.* **30**(3): 397-409.
- Hawkes J.G., 1990.** The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources. Londres : *Belhaven Press.* 259 p.
- Hogetop K., 1930.** Untersuchungen über den Einfluss der Temperatur auf Keimung und Lebensdauer der Kartoffelknolle. *Bot. Archiv* **30**: 350-413.
- Horton D.E., 1987.** Potatoes in the Third World. *The Courier* **101**: 82 - 84.
- Huaman Z., 1987.** Botanique systématique et morphologie de la pomme de terre. *Bull. Inf.Tec.* **5**: 37-44.
- Hussey G. & Stacey N.J., 1984.** Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann. Bot.* **53**: 565-578.
- Jackson S.D., 1999.** Multiple signaling pathways control tuber induction in potato. *Plant Physiol.* **119**: 1-8.
- Johnson S.B., 1997.** Selecting, cutting and handling potato seed – *University of Maine.* <http://www.umext.maine.edu/onlinepubs/htmlpubs/2412.htm>, (04/07/07).
- Kashyap P.S. & Panda R.K., 2003.** Effect of irrigation scheduling on potato crop parameters under water stressed conditions. *Agric. Water Manage.* **59** (1): 49-66.
- Kawakami K., 1962.** The physiological degeneration of potato seed tubers and its control. *Eur. Potato J.* **5**: 40-49.
- Kawakami K., 1952.** Physiological aspects of potato seed tubers. *Mere. Hyogo Univ. Agric.* **2**: 1-114.
- Kechid M., 2005.** Physiologie et Biotechnologie de la microtuberisation de la pomme de terre *Solanum tuberosum*. L. *Mémoire de Magister*, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Mentouri de Constantine, 128p.
- Khuri S. & Moorby J., 1995.** Investigations into the role of sucrose in potato cv Estima microtuber production *in vitro*. *Ann. Bot.* **75**: 295-203.
- Krijthe N.K., 1962.** Observation on the sprouting of seed potatoes. *Eur. Potato J.* **5**(4): 316-333.
- Krijthe N.K., 1958.** Changes in the germinating power of potatoes from the time of lifting onwards. *Eur. Potato J.* **1**: 69-71.
- Kumar G.N.M. & Knowles N.R., 1996.** Oxidative stress results in increased sinks for metabolic energy during aging and sprouting of potato seed-tubers. *Plant Physiol.* **112**(3): 1301-1313.

- Kumar G.N.M., Houtz R.L. & Knowles N.R., 1999.** Age-induced protein modifications and increased proteolysis in potato seed-tubers. *Plant Physiol.* **119**(1): 89-100.
- Lakhoua L. & Ellouze O., 1990.** Induction de la microtubérisation chez *solanum tuberosum* variété : Spunta. Cinquantenaire de la culture *in vitro* Versailles (France), 24-25 Oct. Ed. INRA, Paris. *Les colloques de l'INRA*, n°51.
- Lavieville L., 1991.** Etude de la microtubérisation *in vitro* de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) Thèse Doc. Sci., Univer. Picardie, 137 p.
- Lê C.L., 1995.** Applications de la microtubérisation *in vitro* chez différentes variétés de pomme de terre. *Acta Bot. Gallica* **142** (4): 389.
- Lê C.L., 1991.** Aspects pratiques de la micropropagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Revue Suisse Agric.* **23**: 357-358.
- Lê C.L. (1990).** Facteurs influençant la tubérisation *in vitro* des microboutures de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. Var. Agria). *Revue Suisse Agric.*, **22**: 115 – 116.
- Lê C.L. & Collet G.F., 1988.** Conservation *in vitro* de l'assortiment suisse des variétés de pomme de terre. *Revue Suisse Agric.* **20** (5): 277-281.
- Lê C.L. & Collet G.F., 1985.** Assainissement de la variété de pomme de terre, Sangema. Méthode combinant la thérapie *in vitro* et la culture des méristèmes. Premiers résultats. *Revue Suisse Agric.* **17** (4): 221-225.
- Lê C.L. & Thomas D., 2010.** Production de microtubercules de pomme de terre *in vitro*: effet de la durée de culture. *Revue suisse Agric.* **1** (11-12): 404-409.
- Lê C.L. & Thomas D., 2009.** Production de microtubercules de pomme de terre *in vitro*. *Revue suisse Agric.* **41** (5): 289 – 293.
- Leclerc Y., Donnelly D.J. & Seabrook J.E.A., 1994.** Microtuberization of layered shoots and cuttings of potato: The influence of growth regulators and incubation periods. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* **37**: 113-120.
- Lentini Z. & Earle E.D., 1991.** *In vitro* tuberization of potato clones from different maturity groups. *Plant Cell Reports* **9** : 691-695.
- Levy D., Seabrook J.E.A. & Coleman S., 1993.** Enhancement of tuberization of axillary shoots buds of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars cultured *in vitro*. *J. Exp. Bot.* **42**: 381-386.
- Lulai E.C. & Orr P.H., 1994.** Techniques for detecting and measuring developmental and maturational changes in tuber native periderm. *Am. Potato J.* **71** (8): 491-505.
- Maarouf A., 2000.** Dictionnaire de botanique .54 p.

- Madec P., 1963.** Tuber forming substances in the Potato. *In: The Growth of potato.* Ivins J. D. & Milthorpe N. L. (eds.). Butterwoths, London, 121-131.
- Madec P., 1958.** Le rôle du tubercule-mère dans l'évolution des germes de la pomme de terre. *Ann. Amél. PL 8* : 151-169
- Madec P. & P. Pérennec., 1956.** Influence de l'origine sur le comportement des plants de pommes de terre. *Ann. Amél. PL 6* : 5-26.
- Mani F., Mhamdi M., Bettaieb T. & Hannachi C., 2012.** Effet du saccharose sur la tubérisation *in vitro* de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Revue « Nature & Technologie »*, **07** : 38-43.
- Mikou K., El Yamani J. & Jarrar O., 2003.** Étude comparative des performances en production de quelques générations de *Solanum tuberosum* consommées au Maroc. *Actes Inst. Agron. Vet.* 2003, **23** (2-4) : 143-151.
- Miller S.A. & Libschtz L., 1984.** Potato. *In: Handbook of plant cell culture*, **3: Crops Species**, pp. 291-326.
- Mingo-Castel A.M., Smith O.E. & Kumamoto J., 1980.** Studies of the carbon dioxide promotion and ethylene inhibition of tuberization in potato explants cultured *in vitro*. *Plant Physiol.* **57**: 480-485.
- Mioduszevska H. & Biclinska-Czarnecka M., 1984.** Influence of GA₃ treatment on acid phosphatase activity in potato tubers towards the end of growth, in dormancy and sprouting. *Acta Physiol. Plant.* **6** (21): 75-81.
- Morel G. & Muller J.F., 1964.** La culture *in vitro* du méristème apical de la pomme de terre. *C. R. Acad. Sci.* **258** (5): 250-252.
- Morel G., Martin C. & Muller J.F., 1968.** La guérison des pommes de terre atteintes de maladies à virus. *Ann. Physiol. Vég.* **10** (2) : 113-139.
- Murashige T. & Skoog F., 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays, with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* **15**: 473-497.
- Naik P.S. & Sarkar D., 1998.** Effect of potassium on the *in vitro* potato microtuber production. *Biologia Plantarum* **41**(1): 121-125.
- N'Diaye F., 2001.** Microtubérisation et mycorhization de trois variétés de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.): Pamina, Baraca et Bintje. *Mémoire de DEA, UCAD/FST/BV.*, 88 p.
- Nitsch J.P. & Nitsch C., 1965.** Néof ormation de fleurs *in vitro* chez une espèce de jours courts : *Plumbago indica* L. *Ann. Physiol. Vég.* **7** : 251-256.
- Norris D.O., 1954.** Development of virus-free stock of Green Mountain potato by treatment with malachite green. *Aust. J. of Agr. Res.* **5**: 658-663.

- Nozeran R., Bancilhon-Rossignol L. & Grenan S., 1977.** Nouvelles possibilités d'obtention et de multiplication rapide des clones sains de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *C. R. Acad. Sci. Paris D* **285** : 37-40.
- Nozeran R. & Bancilhon L., 1972.** Les cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche des problèmes posés par l'amélioration des plants. *Ann. Amélior. Plantes* **16** : 117-194.
- O'Brien P.J. & Allen E.J., 1992.** Effects of seed crop husbandry, seed source, seed tuber weight and seed rate on the growth of ware potato crops. *J. Agric. Sci.* **119**: 355-366
- Ochatte C., 2005.** Growth, quality and biotechnology, WFP publisher .Finland.
- Palmer C.E. & Smith O.E., 1970.** Effect of kinetin on tuber formation on isolated stolons of *Solanum tuberosum* L. cultured *in vitro*. *Plant Cell Physiol.* **11**: 304-314.
- Palmer C.E. & Smith O.E., 1969.** Cytokinin and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L. *Nature* **221**: 279 – 280.
- Paupardin C. & Tizio R., 1970.** Action de quelques composés phénoliques sur la tubérisation de la pomme de terre. *Potato Res.* **13**: 187-198.
- Pegg G.F., 1962.** The effect of selected growth promoting and growth inhibiting substances on the extension of segments of etiolated tomato seedlings hypocotyls. *Ann. Bot.* **26**: 219-232.
- Pennazio S. & Vecchiati M., 1976.** Effects of naphthalenetic acid on potato meristem tip development. *Potato Res.* **22**: 257-261.
- Pérennec P. & Madec P., 1980.** Age physiologique du plant de pomme de terre. Incidence sur la germination et répercussions sur le comportement des plantes. *Potato Res.* **23** : 183-199.
- Pérennec P. & Madec P., 1968.** Levée de dormance de tubercules de pomme de terre d'âge différent : action de la rindite, de la gibbérelline et de l'oeilletonnage. *Potato Res.* **12** (2) : 6 p.
- Pérennec P. & Madec P., 1960.** Influence sur la croissance et le développement du germe de pomme de terre. *Ann. Physiol. Végét.* **2** : 29-67.
- Péron J.Y., 2006.** Références productions légumières, 2ème édition. synthèse Agricole p 538-547.
- Potter R.H. & Jones M.G.K., 1991.** An assessment of genetic stability of potato *in vitro* by molecular and phenotypic analysis. *Plant Sci.* **76**: 239-248.

- Pruski K., Duplessis P., Lewis T., Astatkie T., Nowak J. & Struik P.C., 2001.** Jasmonate effect on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars under light and dark conditions. *Potato Res.* **44**: 315-325.
- Pursglov J.W., 1977.** Tropical Crops. Dicotyledons. Longman (ed.) : 557-563.
- Rajnachel-Messaï J., 1987.** La pomme de terre fait peau neuve. *Biofutur* **60** : 25-35.
- Reust W., 1986.** EAPR working group physiological age of the potato. *Potato Res.* **29** (2): 268-271.
- Reust W., 1982.** Contribution à l'appréciation de l'âge physiologique des tubercules de pommes de terre (*Solanum tuberosum* L.) et étude de son importance sur le rendement. *Thèse de doctorat : École Polytechnique Fédérale, Zurich (Suisse)*.
- Robert D., Dumas C. & Bayon C., 1998.** La reproduction .Edt .Doun initiatives santé pp 373.
- Roca W.M., Espinoza N.O., Roca M.R. & Bryan J.E., 1978.** A tissue culture method for the rapid propagation of potatoes. *Am. Potato J.* **55**: 691-701.
- Rolot J.L., Seutin H. & Michelante D., 2002.** Production de minitubercules de pomme de terre par hydroponie : évaluation d'un système combinant les techniques "NFT" et "Gravel Culture" pour deux types de solutions nutritives. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2002 **6** (3) : 155–161
- Rousselle P., Robert Y. & Crosnier J.C., 1996.** La pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. *Paris : INRA Éditions*.
- Rousselle P., Rousselle B. & Ellisseche D., 1992.** La pomme de terre in Amélioration des espèces végétales cultivées .Gallais A, Bammerot H. 1992.
- Salomé P., 2011.** 'Genome sequence and analysis of the tuber crop potato'. For The Potato Genome Sequencing Consortium. *Nature*, **475**: 189-195.
- Scott R.A. & Liverman J.L., 1956.** Promotion of leaf expansion by kinetin and benzylaminopurine. *Plant Physiol.* **31**: 321-322.
- Seabrook J.E.A., Coleman S. & Levy D., 1993.** Effect of photoperiod on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* **34**: 43-51.
- Sidikou R.D.S., Sihachakr D., Lavergne D., Nato A., Ellissèche D., Jouan B. & Ducreux G., 2005.** Microtubérisation chez la pomme de terre- voie d'amélioration et d'adaptation de la qualité nutritionnelle des tubercules. *Maîtrise des Procédés en vue d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments, Utilisation des OGM, Analyse des risques en agroalimentaire. Ouagadougou, 8-11 Novembre 2005*.

- Sidikou R.D.S., Sihachakr D., Lavergne D., Nato A., Ellissèche D., Jouan B. & Ducreux G., 2003.** Etude de la microtuberisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Sahel. *Revue Agricultures (Montrouge)* **12** (1) : 7-14.
- Skoog F. & Miller C.O., 1957.** Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Sympo. Soc. Explt. Biol.* **15**: 118-131.
- Slater J.W., 1963.** Mechanism of tuber initiation. *In: The Growth of potato.* Ivins J. D. & Milthorpe N. L. (eds.). Butterwoths, London, 114-120.
- Slimmon T., Machado V.S. & Coffin R., 1989.** The effect of light on *in vitro* microtuberization of potato cultivars. *Am. Potato J.* vol??, 843 – 848.
- Soltner D., 2005.** Les grandes productions végétales, phytotechnie spéciale-céréales-plantes sarclées-prairies. *Collection Sciences et Techniques Agricoles 20eme édition* 472 p.
- Stallknecht G.F., 1972.** Coumarin-induced tuber formation on Excised shoots of *Solanum tuberosum* L. Cultured *in vitro*. *Plant Physiol.* **50**: 412-413.
- Sy M.O., 1997.** Micropropagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) transfert biotechnologique au Sénégal. II^e Edition des journées scientifiques sur l'économie sénégalaise. CREA-FASEG-UCAD, Dakar, 13-14 Juin 1997. 9 p.
- Tábóri K.M., Dobránszki J. & Ferenczy A., 1999.** Some sprouting characteristics of microtubers. *Potato Res.* **42**: 611-617.
- Toosey R.D., 1964.** The presprouting of seed potatoes. Factors affecting spout growth and subsequent yield. Part I and II. *Field Crop Abstr.* **17**: 161-168 : 239-244.
- Toosey R.D., 1963.** The influence of sprout development at planting on subsequent growth and yield. *In: The growth of the potato.* Butterworths, London: 79-95.
- Turnbull C.G.N. & Hanke D.E., 1985.** The control of bud dormancy in potato *Solanum tuberosum* cultivar majestic tubers: evidence for the primary role of cytokinins and a seasonal pattern of changing sensibility to cytokine. *Planta* **165**: 359-365.
- Vakis N.J., 1986.** Influence of physiological ageing of seed potatoes on yield and earliness. *Potato Res.* **29**: 417-425.
- Van Der Zaag D.E. & Van Loon C.D., 1987.** Effect of physiological age on growth vigour of seed potatoes of two cultivars. 5. Review of literature and integration of some experimental results. *Potato Res.* **30**(3): 451-472.
- Van Ittersum M.K., 1992.** Relation between growth conditions and dormancy of seed potatoes. 1. Effects of nitrogen. *Potato Res.* **35**: 355-364.
- Van Loon C.D., 1983.** The effect of a cold shock on dormancy of potatoes. *Potato Res.* **26**, 81.

- Vasil I.K., 1973.** Organogenetic, histochemical and ultrastructural effects of plant growth substances *in vitro*. *Biochem. Physiol. Pflanz.* **164**: 58-71.
- Verhees J., 2002.** Cell cycle and storage related gene expression in potato tubers (*Thèse de doctorat*). Wageningen : Wageningen Agricultural University, 133 p.
- Villafranca M.J., Veramendi J., Sota V. & Mingo-Castel A.M., 1998.** Effect of physiological age of mother tuber and number of subcultures on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Rep.* **17**: 787-790.
- Vinterhalter D., Vinterhalter B. & Calovic., 1997.** The relationship between sucrose and cytokinins in the regulation of growth and branching in potato cv Désiree shoot cultures. *Acta Hort.* **462**: 319-323.
- Vreugdenhil D., Boogaard Y., Visser R.G.F. & De Bruijn S.M., 1998.** Comparison of tuber and shoot formation from *in vitro* cultured potato explants. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* **53**: 197-204.
- Wang P.J. & Hu C.Y., 1982.** *In vitro* mass tuberization and virus free seed potato production in Taiwan. *Am. Potato J.* **59**: 33-37.
- Weston G.D., 1976.** Ageing in excised tomato root in glucose: effects of growth regulators. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Vol. **27**.
- Wiersema S.G., Cabello R., Tovar P. & Dodds J.H., 1987.** Rapid seed multiplication by planting into beds microtubers and *in vitro* plants. *Potato Res.* **30**: 200 – 214.
- Xu, X., van Lammeren A.A.M., Vermeer E. & Vreugdenhil D., 1998.** The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. *Plant Physiol.* **117**: 575–584.
- Zabrouskov V., Kumar G.N.M., Spsychalla J.P. & Knowles N.R., 2002.** Oxidative metabolism and the physiological age of seed potatoes are affected by increased α -linolenate content. *Physiol. Plant.* **116**(2): 172-185.
- Zarrabeitia A., Lejarcegui X., Veramendi J. & Mingo-Castel A.M., 1997.** Influence of nitrogen supply on micropropagation and subsequent microtuberization of four potato cultivars. *Am Potato J.* **370**: 369-378.
- Zryd J.P., 1988.** Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques. Lausanne, Suisse : *Presses Polytechnique Romandes*, 305 p.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : ATLAS

Caractères culturaux et d'utilisation

Rendement : 113 % de Bintje.

Calibrage : Proportion de gros tubercules : très forte.

Sensibilité aux maladies :

Mildiou du feuillage : sensible.

Mildiou du tubercule : R.A.S.

Galle verruqueuse : non attaquée.

Gale commune : sensible.

Virus X : R.A.S.

Virus A : R.A.S.

Virus Y : assez sensible.

Enroulement : très sensible.

Nématode RO 1-4 : R.A.S.

Défauts internes du tubercule : Moyennement sensible aux taches de rouille, peu sensible au cœur creux, assez sensible aux taches cendrées.

Sensibilité à l'égermage : Assez peu sensible.

Repos végétatif : Assez long.

Qualité culinaire : Assez bonne tenue à la cuisson, groupe culinaire B-C, noircissement après cuisson moyen, coloration à la friture : R.A.S.

Teneur en matière sèche : Moyenne.

Aptitude à la conservation : Moyenne.

Annexe 2 : AIDA

Caractères cultureux et d'utilisation

Rendement : Bon.

Calibrage : Proportion de gros tubercules : forte à très forte.

Sensibilité aux maladies :

Mildiou du feuillage : Sensible.

Mildiou du tubercule : Peu sensible.

Galle verruqueuse : Très sensible.

Gale commune : Sensible.

Virus X : R A S.

Virus A : R A S.

Virus Y : assez sensible.

Enroulement : moyennement sensible.

Nématode RO 1-4 : R A S.

Défauts internes du tubercule : Moyennement sensible aux taches de rouille.

Sensibilité à l'égermage : R A S.

Sensibilité aux chocs : Moyennement sensible.

Repos végétatif : Moyen.

Qualité culinaire : Tenue à la cuisson : R A S, groupe culinaire B.

Teneur en matière sèche : Moyenne.

Aptitude à la conservation : Moyenne.

Annexe 2 : ODESSA

Caractères culturaux et d'utilisation

Rendement : 118 % de (Sirtéma + Bintje) / 2.

Calibrage : Proportion de gros tubercules : forte à très forte.

Sensibilité aux maladies :

Mildiou du feuillage : assez sensible.

Mildiou du tubercule : R.A.S.

Galle verruqueuse : non attaquée.

Gale commune : assez sensible.

Virus X : sensible.

Virus A : sensible.

Virus Y : assez peu sensible.

Enroulement : moyennement sensible.

Nématode RO 1-4 : résistante.

Défauts internes du tubercule : Sensible aux taches de rouille, moyennement sensible au cœur creux et aux taches cendrées.

Sensibilité à l'égermage : Moyennement sensible.

Sensibilité aux chocs : Assez sensible.

Repos végétatif : Moyen.

Qualité culinaire : Tenue à la cuisson : moyenne, groupe culinaire B, léger noircissement après cuisson, non apte à la friture.

Teneur en matière sèche : Faible à très faible.

Aptitude à la conservation : Moyenne.

Annexe 4 : Composition minérale du milieu de culture de Murashige & Skoog (1962).

<u>Macro éléments</u>	<u>Concentrations (mg. L⁻¹)</u>
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	370
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	440
KH ₂ PO ₄	170
<u>Micro éléments</u>	
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ , 4 H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	8,6
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ , 2 H ₂ O	0,25
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0,025
CoCl ₂ , 6 H ₂ O	0,025
Chélate de fer	
Na ₂ EDTA, 2 H ₂ O	37,25
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	27,85
<u>Composés organiques</u>	
Sucre -alcool	
Méso-inositol	100
Aminoacides	
Glycine	2
Vitamines	
Acide nicotinique	0,5
Pyridoxine-HCL	0,5
Thiamine-HCL	0,1
Saccharose	20 g.L ⁻¹
<u>Agent gélifiant</u>	
Agar-agar ou Bacto Difco-agar	7 g. L ⁻¹
Le pH du milieu est ajusté à 5,7 - 5,8	

Annexe 5 : Composition des vitamines de Nitsch & Nitsch (1965)

<u>Vitamines</u>	<u>Concentrations (mg. L⁻¹)</u>
Thiamine - HCl	500
Acide nicotinique	5000
Pyridoxine - HCl	500
Biotine	50
Acide folique	500

Annexe 6

Article 1 :



INFLUENCE OF HORMONAL TREATMENTS AND OF SUCROSE ON THE MICROTUBERIZATION OF THREE POTATO VARIETIES (*Solanum tuberosum* L.) ADAPTED TO AGROCLIMATIC CONDITIONS IN SENEGAL

DIEME¹ Abraham, SAGNA¹ Maurice, SY¹✉ Mame Ourèye

1. Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale,
Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar - Fann,
Sénégal. Tél: (+ 221) 776 455 773, Fax: (+ 221) 338 246 3

**INFLUENCE OF HORMONAL TREATMENTS AND OF SUCROSE ON THE
MICROTUBERIZATION OF THREE POTATO VARIETIES (*Solanum tuberosum* L.)
ADAPTED TO AGROCLIMATIC CONDITIONS IN SENEGAL**

DIEME¹ Abraham, SAGNA¹ Maurice, SY¹✉ Mame Ourèye

¹Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar - Fann, Sénégal. Tél: (+ 221) 776 455 773, Fax: (+ 221) 338 246 318.

ABSTRACT: In the situation of a research-development project on the in vitro production of potato seeds in Senegal, we attempted to improve the microtuberization of some varieties. The production of vitrotubers is one of the most efficient tools for the propagation of basic material, the transport of germplasm and the conservation of potato varieties cultivated after cleansing. It allows, at any period of the year, to obtain healthy seeds ready to be planted and which can be dispatched within long distances without any specific precaution.

In this context, comparative studies have been achieved under darkness conditions and at 20°C, on two types of Murashige & Skoog (MS/2) media of tuberization, with, on the one hand, a sucrose concentration of 80 or 100 g L⁻¹, without hormones and on the other with different hormonal combinations (Kinetin + BAP) or (Kinetin + Coumarin). Aïda variety presents the best aptitude for the microtuberization with a rate of 91%. The sucrose concentration most favorable being 80 g L⁻¹ for the Aïda variety and 100 g L⁻¹ for the Atlas and Odessa varieties. The Aïda variety (88.5%) gave more microtubers when the hormonal combination Kinetin + BAP is added to the culture medium, compared to the Odessa (74.5%) and Atlas (66.5%) varieties. The replacement of the BAP by Coumarin in the hormonal combination was not beneficial. We noticed, indeed, a reduction of the microtuberization rate for all varieties whatever was the sucrose concentration added to the culture medium. The output in mass of the microtubers depends as well on the caliber and the number of microtubers.

Keywords: *Solanum tuberosum*, cuttings, microtubers, sucrose, cytokinins, coumarin.

INTRODUCTION

The potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most important food and economic plant of the *Solanaceae* family. It occupies the 5th world rank of human food. In Senegal, the potato which bulk of cultivation concentrates in the “Niayes” zone and has become an important horticultural speculation, both by its production and its consumption. It also represents 10% of the national production of vegetables and roughly 50% of trade importation. The national production of 2002-2003 season was estimated at 7.029 tons. This production is insufficient to cover the national needs, and in comparison with the estimated importations of 26,769 tons ; making an amount of 3 billions 588 millions F.CFA. Analysis of the potato production cost illustrates that potato seeds represent one third of importation, which heavily influences the trade balance in Senegal. Thus, the necessity to develop a lasting policy of potato seeds production in our country is imperative.

The development of potato cultivation in the sahelian zone is hindered by the difficulty to obtain a rather unpredictable supply in quality seeds often unsuitable with the periods of field cultivation of the year. A reduced range of varieties adapted to our agroclimatic conditions only does exist. Besides, commercial structured processes for supply, distribution, and conservation of seeds are fragile or not well organized. The Potato can be reproduced in a sexual manner. It produces fruits in berries containing kernels. The use of kernels as seeds draws away a very large genetic heterogeneity within progeny plants.

This is why, the tuber, organ of vegetative multiplication is used like seed. Nevertheless, the assertion of a good health state is more complex, particularly in tropical zones.

To deter phytosanitary problems and of heterogeneity derivations in the progeny, Morel [16] and, later, Nozeran [19] have set a method of *in vitro* vegetative multiplication also called micropropagation. This method of cuttings adequate and fast conducts to obtaining an important number of juvenile plants. It brings more flexibility and quickness in the processes of plant production and it is a better tool to eradicate viruses [25]. Nevertheless, transferring directly towards the full field the *in vitro* cultivated plantlets is not possible. Hence, developing various techniques allowing this transfer was performed but each of her has advantages and disadvantages. Currently, the use of microtubers proves to be one of the convenient and efficient means to propagate basics material and preserve cultivated varieties of potato after purification [2 ; 11; 12].

The conditions of the environment of culture which characterize the aptitude for *in vitro* tuberization have been studied and improved by several authors [6; 7; 31; 8; 10; 18; 27]. Microtuberization techniques also take into account local economic constraints. Microtubers can be kept in cold, as such, during at least a year. Besides, they are much less fragile than the existing microplants from *in vitro* culture, which require, further frequent subcultures, a very delicate period of weaning, and gripping in greenhouse, before the planting in natural conditions, microtubers are directly produced *in vitro* from cultivated nodes or nodal cuttings. Nothing differentiates them from tubers produced in the field if it is not their size, in general lower than 10 mm, and their weight. They weigh on average less than 1 gram. From this perspective, considering the absence of local production of potato seeds, which are totally imported from the North, and to free the producers from constraints linked to supply and to availability of potato seeds in quality, we undertook this study to contribute to potato seed production in Senegal. Consequently were examined, the influence of hormonal treatments and of sucrose in the culture media during microtuberization of three potato varieties adapted to the agroclimatic conditions of the Senegal.

MATERIALS AND METHODS

The basic material is constituted of Elite tubers belonging to three varieties of potato: Aïda, Atlas and Odessa. Young plants had been imported from GERMICOPA S.A. (*Qimper, France*). These varieties were chosen because of their adaptability to Senegalese agroclimatic conditions. Tubers-young plants are 28/35 mm caliber and are virus free according to the phytosanitary certificates which accompanied them (Norms of certification ISO 9001). Twenty tubers were chosen regarding the Aïda variety, 30 for the Atlas and 28 for Odessa.

The *in vitro* tuberization is acquired by modifying the experimental conditions of growth of the cuttings, which is what leads them to tuberization. This occurred at, in most cases, by passing in short photoperiods and a lowering of incubation temperatures (15 - 20°C) under favorable nutritional conditions.

The existing vitroplants of germs taken from tubers-young plants were used for this study. They were multiplied on Murashige [17] medium, according to the protocol represented by Couillerot [3]. After 4 weeks of culture, the explants constituted by a portion of stem, an axillary bud, and a leaf, *i.e.* mono nodal cutting, are sowed aseptically in a Murashige & Skoog (1962) medium, where macro-elements are reduced by half (MS/2) and in the presence of 80 g L⁻¹ or 100 g L⁻¹ of sucrose. To test the effect of hormones on the microtuberization process, the medium of culture has been enriched or not with cytokinin (KIN and BAP: 1 – 2.5 mg L⁻¹) and/or with coumarin (0.025 mg L⁻¹). These culture media, which pH was adjusted to 5.9, have been solidified with agar; at the rate of 8 g L⁻¹ and autoclaved to 110°C during 20 min. For every treatment, an experimental unit is formed of a jar filled with 50 mL of solid medium MS/2 and contains 20 explants. The adopted experimental implement is a complete randomization of 8 treatments by variety, which makes 24 treatments. The explants of the 3 varieties (Aïda, Atlas and Odessa) were incubated in darkness under low temperature, which is 20°C ± 1°C during 72 days. For each variety and every treatment, the rate of microtuberization and the output have been calculated.

Different performed treatments have been categorized between multiple comparison of averages and rates, after analysis of variance followed by the test of Student, Newman, and Keuls at the probability threshold of 5 % (SPSS software).

RESULTS

On the MS/2 culture media, enriched with sucrose (80 and 100 g L⁻¹) and complemented or not with cytokinin (KIN (kinetin) and BAP at 1 mg L⁻¹ or 2.5 mg L⁻¹) and/or with coumarin (0.025 mg L⁻¹), a precocious tuberization was determined, 13 days after incubation of the vitroplants of Aïda variety. This phenomenon of microtuberization started only, respectively on 19 and 20 days for the Odessa and Atlas varieties. In general, the microtubers of Aïda variety (Plate 1) have a much more spherical aspect than those of Atlas and Odessa varieties, which were rather stretched out to oblong. The largest part of them, whatever can be the variety, developed in the armpit of nodes, out of the culture medium and in epigeal position (92 %).

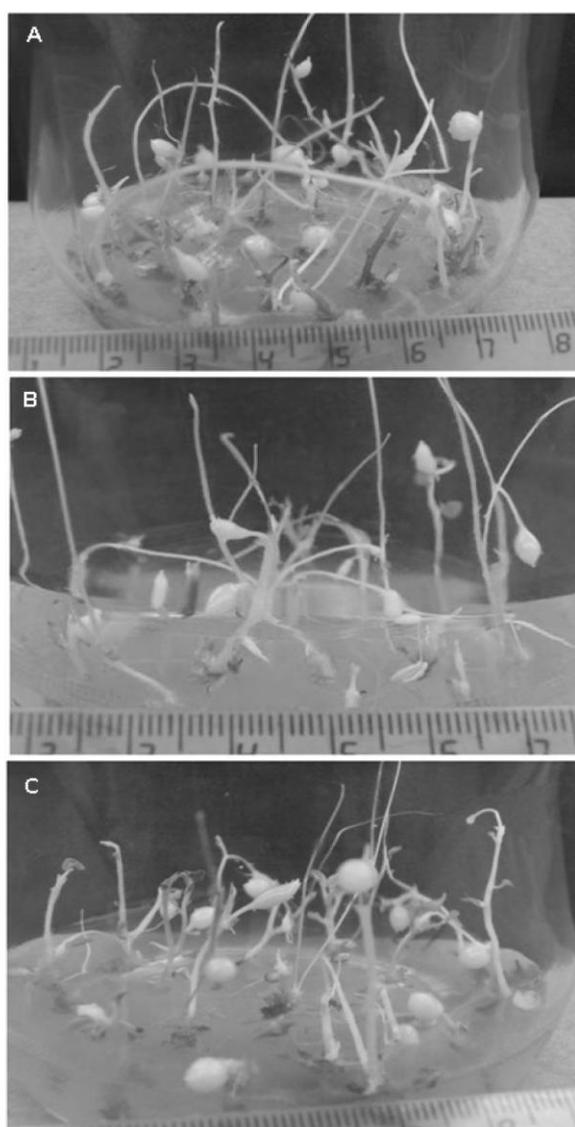


Plate 1: Appearance of microtubers of three potatoes varieties: Aïda (A), Atlas (B) and Odessa (C) formed in MS/2 with added sucrose, cytokinins and / or coumarin, after 72 days of incubation into darkness at 20°C.

1. Sucrose Influence on the microtuberization

Microcuttings were planted on MS/2 medium, with sucrose added in different concentrations (80 and 100 g L⁻¹; Figure 1). The rate of tuberization varied according to the concentration in sucrose in the culture medium. Optimal tuberization rate was acquired for Aïda variety (91 %) in the presence of 80 g L⁻¹ of sucrose. On the other hand, for Odessa et Atlas varieties, it was respectively 67 % and 28.5 %, in the presence of 100 g L⁻¹ of sucrose. Aïda variety presented a better aptitude therefore for the microtuberization (Table 1).

Table 1: Effects of sucrose concentrations and hormonal combinations on the microtuberization of the three potato varieties after 72 days of incubation at 20°C.

Treatments	Rate of microtuberization (%)		
	AÏDA	ATLAS	ODESSA
MS/2 + Sucrose 80 g L ⁻¹	91 a	22 j	46 gh
MS/2 + Sucrose 100 g L ⁻¹	77,5 bc	28,5 i	67 cde
MS/2 + KIN 1mg L ⁻¹ + BAP 1mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	61,5 def	66,5 cde	69 cde
MS/2 + KIN 1mg L ⁻¹ + BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	55,5 efg	43,5 gh	66,5 cde
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + BAP 1mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	67 cde	51,5 fg	71 cd
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + BAP 1mg L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	88,5 a	37,5 hi	74,5 cd
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + Coum 0.025 mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	85,5 ab	43,5 gh	51 fg
MS/2 + KIN 2.5 mg.L ⁻¹ + Coum 0.025 mg.L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	66,5 cde	28 i	31,5 i

In the last column, numbers followed by the same letters significantly do not differ at the probability threshold of P <0,05 (Test of Newman-Keuls).

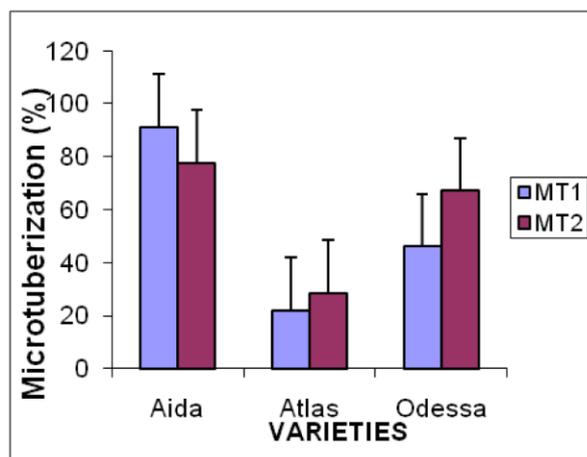


Figure 1: Effect of sucrose on the microtuberization of Aïda, Atlas and Odessa varieties after 72 days of incubation at 20°C.

Legend: MT 1 = MS/2 + Sucrose 80 g L⁻¹ MT 2 = MS/2 + Sucrose 100 g L⁻¹

2. Combined Effects of cytokinins (KIN + BAP) and of sucrose.

The combination MS/2 + KIN 2.5 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 100 g L⁻¹ favored better the tuberization of minicuttings with a rate reaching 88.5 % for the Aïda variety.

The Odessa variety also gave a good rate of tuberization (74.5 %) but inferior to that of Aïda's. For the Atlas variety, the combination MS/2 +KIN 1 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + 80 g L⁻¹ of sucrose, was the most efficient, with a rate of tuberization equivalent to 66.5 %. The Aïda variety better formed tubers during the addition of the hormonal combination KIN + BAP compared with the Odessa variety (74.5 %) and the Atlas variety (66.5 %) (Figure 2 and Table 1).

3. Combined effects of Kinetin and Coumarin in the presence of sucrose on microtuberization.

The rate of microtuberization varied from 28 % to 85.5 %. The combination MS/2 + KIN 2.5 mg L⁻¹ + COUM (coumarin) 0.025 mg L⁻¹ + Sucrose 80 g L⁻¹ revealed itself more advantageous for the microtuberization for all varieties. So, it was noticed a 85.5 % rate for the Aïda variety, 51 % for the Odessa, and 36 % for the Atlas (Table 1).

The substitution of BAP by the Coumarin in the hormonal combination was not advantageous because it showed a reduction in the rate of microtuberization for all varieties, no matter what the concentration in sucrose added in the culture medium was.

We have got a better output in microtubers on the medium of culture MS/2 enriched with 80 g L⁻¹ of sucrose, with a number equal to 182 for Aïda variety. This output significantly did not differ from that of medium MS/2 + KIN 2.5 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 100 g L⁻¹ (177) and MS/2 + KIN 2.5 mg L⁻¹ + COUM 0.025 mg L⁻¹ + Sucrose 80 g L⁻¹ (171). We can, therefore, conclude that sucrose and cytokinins both favor induction to the tuberization (Table 2).

Table 2: Number of microtubers formed by variety on different media of *in vitro* tuberization.

Treatments	Number of microtubers		
	AÏDA	ATLAS	ODESSA
MS/2 + Sucrose 80 g L ⁻¹	182	44	92
MS/2 + Sucrose 100 g L ⁻¹	155	57	134
MS/2 + KIN 1mg L ⁻¹ + BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	123	133	138
MS/2 + KIN 1 mg L ⁻¹ + BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	111	87	133
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ +BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	134	103	142
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + BAP1 mg L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	177	75	149
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + Coum 0.025 mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	171	87	102
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + Coum 0.025 mg L ⁻¹ + Sucrose g L ⁻¹	133	56	63

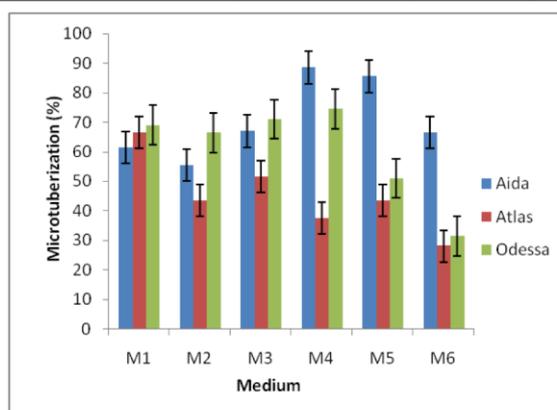


Figure 2: Effect of sucrose and of hormonal combinations on microtuberization of Aïda, Atlas and Odessa varieties after 72 days of incubation into darkness at 20°C.

Legend: M 1 = MS/2 + KIN 1mg L⁻¹+ BAP 1mg L⁻¹+ Sucrose 80 g L⁻¹

M 2 = MS/2 + KIN 1mg L⁻¹+ BAP 1mg L⁻¹+ Sucrose 100 g L⁻¹

M 3 = MS/2 + KIN 2.5 mg L⁻¹+ BAP 1mg L⁻¹+ Sucrose 80 g L⁻¹

M 4 = MS/2 + KIN 2.5 mg L⁻¹+ BAP 1mg L⁻¹+ Sucrose 100 g L⁻¹

M 5 = MS/2 + Kin 2.5 mg L⁻¹+ Coum 0.025 mg L⁻¹+ Sucrose 80 g L⁻¹

M 6 = MS/2 + Kin 2.5 mg L⁻¹+ Coum 0.025 mg L⁻¹+ Sucrose 100 g L⁻¹

The weight of microtubers, formed on the MS/2 medium enriched with 80 g L⁻¹ of sucrose, was improved, either 10.413 g. Microtubers formed in the medium MS/2 + sucrose 100 g L⁻¹, although they had an output of 155, they weighed 9.045 g which significantly did not differ from 10.413 g. The best output has been obtained for Atlas (133) and Odessa (149) varieties which respectively were acquired on media of tuberization MS/2 + KIN 1 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 80 g L⁻¹ and MS/2+ KIN 2.5 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 100 g L⁻¹. The hormonal combinations MS/2 + KIN 2.5 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 100 g L⁻¹ and MS/2 + KIN 2.5 mg L + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 80 g L⁻¹; they gave the most elevated outputs in mass, with respectively 3.45 g for the Atlas variety and 3.78 g for the Odessa variety (Table 3). It seems therefore that the weight of microtubers depends as well on output as on caliber.

Table 3: Weight (g) of microtubers produced by variety on different media of *in vitro* tuberization.

Treatments	AÏDA (g)	ATLAS (g)	ODESSA (g)
MS/2 + sucrose 80 g L ⁻¹	10,413	0,939	0,57
MS/2 + Sucrose 100 g L ⁻¹	9,045	1,559	2,2
MS/2 + KIN 1 mg L ⁻¹ + BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	3,909	2,07	1,295
MS/2 + KIN 1 mg L ⁻¹ + BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	0,352	1,553	1,851
MS/2 + KIN 2 5 mg L ⁻¹ + BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	0,44	1,078	3,787
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + BAP 1 mg L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	4,292	3,45	1,772
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + Coum 0.025 mg L ⁻¹ + Sucrose 80 g L ⁻¹	4,532	2,113	2,466
MS/2 + KIN 2.5 mg L ⁻¹ + Coum 0.025 mg L ⁻¹ + Sucrose 100 g L ⁻¹	7,082	1,178	0,81

DISCUSSION

Studies led on the factors implicated in the *in vitro* tuberization of some potato have been the object of several scientific publications in the sixties [1; 13; 29]. In general, a shortening of the photoperiod (shorter days) and a decrease in temperature, lead to the tuberization of potato

The medium of culture used for the microtuberization is the nutritious basic medium (MS/2). In fact, a modification of the nutritious conditions of growth of cuttings leads to the tuberization *in vitro*, as well and, is what orientates them to a tuberization on stolons produced to the base. Thus, Dieng [4] dilutes by half the mineral solution (macro-elements) of the medium of culture and, acquires a more precious and important tuberization of the studied varieties. During this experiment of microtuberization, apical and basal explants were eliminated on every vitroplant. In fact, Lê [9] had pointed out that there was a loss of productivity all along numerous subcultures compared with the existent explants of the subjacent levels of insertion.

The study of sucrose influence on the tuberization of the *in vitro* cultivated explants revealed that the optimum potential of tuberization is obtained in the presence of 80 g L⁻¹ of sucrose for the Aïda variety, with a rate of microtuberization of 91 %. The Odessa and Atlas varieties have a maximum tuberization with a concentration in sucrose of 100 g L⁻¹. The maximum rate of microtuberization of these two varieties was respectively 67 % and 28.5 %. Similar results were acquired with the same concentration of sucrose by Lê [10] with variety Agria; Dieng [4] with variety Atlantic × LT7 (18) and Ndiaye [18] with variety Bintje. In fact, sucrose acts as carbonaceous substrate in starch biosynthesis. *In vitro* cultivated tissue or explants are broadly heterotrophic concerning the carbon, owing to the absence or insufficiency of chlorophyll assimilation, and this is true specially since incubation is made into darkness. From there, came the idea sustained by Palmer & Smith [20], and then by Lakhoua & Ellouze [8] that the potato stolon ends to tuberize need to be bred in high concentrations in sugar. On a poor environment in sugars, the tuberization is late and weaker.

Adding hormones as cytokinin (KIN and BAP) and the coumarin, in the medium of culture draws a better response of explants to the tuberization of Odessa and of Atlas varieties with respectively a maximum rate of microtuberization of 74.5 % and 66.5 %. These results reinforce those of Dieng [3] on other varieties of potato, which shows that cytokinins play a crucial role in the microtubers initiation. In fact, hormones are at the origin of all the processes which lead to the tuberization, meaning : the activation of cell division [28]; the inhibition of cellular elongation [24]; the stimulation of radial extension of cells [26]; the activation of enzymes [14] and, finally the accumulation of starch in cells [32].

For the Aïda variety, the addition of hormones did not give a better response of tuberization because we noticed a 88.5 % rate contrary to the control medium without hormone, which gave 91 %. This result reinforces observations made by Palmer [21] who maintained that it was not obvious that there is a specific stimulation of the tuberization following an application of exogenous growth regulators.

Concerning the Aïda and Odessa varieties, we noticed that explants put into culture in the medium containing 100 g L⁻¹ of sucrose, enriched with kinetin at 2.5 mg L⁻¹ and BAP 1 mg L⁻¹, showed a more precocious and more important tuberization. As for the Atlas variety, the combination KIN 1 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 80 g L⁻¹ turned out to be the most efficient then. These results reinforce those of Ndiaye [18] who noticed a very important tuberization when they combine KIN 2.5 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 100 g L⁻¹; but works done by Dieng [4] show that the combination KIN 1 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹ + Sucrose 80 g L⁻¹ is the most efficient for Atlantic variety × LT7 (18).

The hormonal combination kinetin and coumarin and sucrose at 80 g L⁻¹ and at 100 g L⁻¹ gives a maximum rate of tuberization but lower than to the one reached during the addition of cytokinin only for all varieties. In fact, Ewing [5] showed that among the numerous activators of growth, cytokinin plays a major role in tuberization induction to *Solanum tuberosum* L. The same would be expected from a number of phenolic compounds as coumarin, which is a very powerful tuberization activator of young excised potato plants [23]. In addition to all that, Stallknecht [30] demonstrated that the tuberization accomplished with a coumarin concentration of 25-50 mg L⁻¹ only needs 15 - 20 days to reach 100 % of tuberized vitroplants and that tuberization process was optimum. He noticed as well that microtubers were of bigger sizes. Weston [33] showed that a good tuberization of the vitroplants in the presence of coumarin needs a minimum temperature of 20°C, and a minimal concentration of sucrose of 4 % and a maximum sucrose of 6 to 8 % concentration. A concentration of 12 % leads to an inhibition of the coumarin action on tuberization. These results have been confirmed during our study because the rate of tuberization of the cultivated vitroplants in the medium enriched with 80 g L⁻¹ of sucrose, was superior to that acquired in the medium supplemented with 100 g L⁻¹ of sucrose.

The weight of the microtubers of the Aïda variety is superior to that of the two other varieties according to the culture medium studied. These results reinforce those of Lakhoua [8] which translated a correlation between the weights of vitrotubers and the strength of the cultivated young plants. In fact, the most vigorous plants give more homogeneous microtubers and of a higher caliber superior to 5 mm.

The best output in microtubers is obtained with the Aïda variety (182) in medium MS/2 + Sucrose 80 g L⁻¹ with an average weight of 10.814 g of the formed microtubers. These results are in adequacy with those of Sidikou [27] which showed that the output (as a whole) of microtubers is proportional to their maturity and to the percentage of sucrose in medium. Moreover, for the Aïda variety, the coefficient of multiplication by tuberized explants is the most high (1 - 3) whatever the tuberization medium used. This coefficient is only in the range of 2 for Atlas and Odessa varieties with an overall output of microtubers which are respectively of 133 and of 149.

CONCLUSION

Coming to the end of this study, a certain number of points need to be underlined. The *in vitro* method of vegetative multiplication used, allows us to respect easily, the imperatives of conformity (permanency and genetic stability) for different potato varieties. Microtuberization of explants requires an important provision of sucrose and of growth regulators.

It is more precocious when the culture medium is enriched with cytokinins. The weak mass of microtubers harvested with Atlas variety is to be correlated to its status of late variety; which did not completely achieve its period of dormancy and to non optimal hormonal combinations into the tuberization media.

These results, in their globality, allow therefore to consider the possibility of a large multiplication of microtubers in a large scale, whose germinative capacity is not only important, but whose plants would have a synchronous development and growth. By the fact, they could be used as seeds to boost the agricultural production in our country, the Senegal.

ACKNOWLEDGMENTS

We pay respects by congratulations to the Fond National de Recherche Agro-Alimentaire (FNRAA) whose financial support allowed us to complete successfully this study, as part of Project N° 09 AP 03.

We are also grateful to Prof. Amadou Moustapha Diop, faculty member of the literature Section of CAD University for his assistance to the English proof correction.

REFERENCES

1. Booth A. (1963). Role of growth substances in development of stolons. *In: The Growth of potato*. Ivins J. D. & Milthorpe N. L. (eds.). Butterworths, London, 99-113.
2. Chandra R., Dodds J. H and Tovar P., 1988. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Newsletter, International Association for Plant Tissue Culture* 55, 10-20.
3. Couillerot J. P. (1993). Effects and distribution of ¹⁴C-gibberellic acid after application to seed potato microtubers. *Phyton*. 54 : 67-73.
4. Dieng A. (1993). Micropropagation et microtubérisation de deux variétés de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L) adaptées aux conditions agroclimatiques du Sénégal. *Mémoire de DEA*. FST/BV/UCAD, 84 p.
5. Ewing E. E. (1995). Cuttings as simplified models of the potato plant. *In: Potato physiology* P. H. LI (ed.), Academic Press, Orlando, 154-207.
6. Fung Mei Lo., Irvine B. R. And Barker W.G., 1972. *In vitro* tuberization of common potato (*Solanum tuberosum*) is not a response to the osmotic concentration of the medium. *Canadian Journal of Botany* 50, 603-605.
7. Hussey G. & Stacey N. J. (1984). Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann. Bot.* 53: 565-578.
8. Lakhoua L. & Ellouze O. (1990). Induction de la microtubérisation chez *solanum tuberosum* variété : Spunta. Cinquantenaire de la culture *in vitro* Versailles (France), 24-25 Oct. Ed. INRA, Paris. *Les colloques de l'INRA*, n°51.
9. Lê C. L. (1991). Aspects pratiques de la micropropagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Revue Suisse Agric.* 23 : 357-358.
10. Lê C. L. (1990). Facteurs influençant la tubérisation *in vitro* des microboutures de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. Var. Agria). *Revue Suisse Agric.*, 22 : 115 – 116.
11. Lê C. L. & Collet G. F. (1988). Conservation *in vitro* de l'assortiment suisse des variétés de pomme de terre. *Revue Suisse Agric.* 20 (5) : 277-281.
12. Lê C. L. & Collet G. F. (1985). Assainissement de la variété de pomme de terre, Sangema. Méthode combinant la thérapie *in vitro* et la culture des méristèmes. Premiers résultats. *Revue Suisse Agric.* 17 (4) : 221-225.
13. Madec P. (1963). Tuber forming substances in the Potato. *In: The Growth of potato*. Ivins J. D. & Milthorpe N. L. (eds.). Butterworths, London, 121-131.
14. Mingo-Castel A. M., Smith O. E. & Kumamoto J. (1980). Studies of the carbon dioxide promotion and ethylene inhibition of tuberization in potato explants cultured *in vitro*. *Plant Physiol.* 57: 480-485.
15. Morel G. & Muller J. F. (1964). La culture *in vitro* du méristème apical de la pomme de terre. *C. R. Acad. Sci.* 258 (5) : 250-252.

16. Morel G., Martin C. & Muller J. F. (1968). La guérison des pommes de terre atteintes de maladies à virus. *Ann. Physiol. Vég.* 10 (2) : 113-139.
17. Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays, with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497.
18. N'Diaye F. (2001). Microtubérisation et mycorhization de trois variétés de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) : Pamina, Baraca et Bintje. *Mémoire de DEA, UCAD/FST/BV.*, 88 p.
19. Nozeran R., Bancilhon-Rossignol L. & Grenan S. (1977). Nouvelles possibilités d'obtention et de multiplication rapide des clones sains de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) *C. R. Acad. Sci. Paris D* 285 : 37-40.
20. Palmer C. E. & Smith O. E. (1970). Effect of kinetin on tuber formation on isolated stolons of *Solanum tuberosum* L. cultured *in vitro*. *Plant Cell Physiol.* 11 : 304-314.
21. Palmer C. E. & Smith O. E. (1969). Cytokinin and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L. *Nature* 221: 279 – 280.
22. Nozeran R. & Bancilhon L. (1972). Les cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche des problèmes posés par l'amélioration des plants. *Ann. Amélior. Plantes* 16 : 117-194.
23. Paupardin C. & Tizio R. (1970). Action de quelques composés phénoliques sur la tubérisation de la pomme de terre. *Potato Res.* 13: 187-198.
24. Pegg G. F. (1962). The effect of selected growth promoting and growth inhibiting substances on the extension of segments of etiolated tomato seedlings hypocotyls. *Ann. Bot.* 26: 219-232.
25. Ranalli P. (1997). Innovative propagation methods in seed tuber multiplication programmes. *Potato Res.* 40: 439-453.
26. Scott R. A. & Liverman J. L. (1956). Promotion of leaf expansion by kinetin and benzylaminopurine. *Plant Physiol.* 31: 321-322.
27. Sidikou R. D. S., Sihachakr D., Lavergne D., Nato A., Ellissèche D., Jouan B. & Ducreux G. (2003). Etude de la microtubérisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Sahel. *Revue Agricultures (Montrouge)* 12(1) : 7-14.
28. Skoog F. & Miller C. O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Sympo. Soc. Exptl. Biol.* 15 : 118-131.
29. Slater J. W. (1963). Mechanism of tuber initiation. *In: The Growth of potato.* Ivins J. D. & Milthorpe N. L. (eds.). Butterwoths, London, 114-120.
30. Stallknecht G. F. (1972). Coumarin-induced tuber formation on Excised shoots of *Solanum tuberosum* L. Cultured *in vitro*. *Plant Physiol.* 50: 412-413.
31. Tovar P., Estrada R., Schilde-Rentschler L. and Dodds J.H., 1985. Induction and use of *in vitro* potato tubers. *CIP Circular* 13 (4), 1-5.
32. Vakis N. J. (1986). Influence of physiological ageing of seed potatoes on yield and earliness. *Potato Res.* 29 : 417-425.
33. Weston G. D. (1976). Ageing in excised tomato root in glucose: effects of growth regulators. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Vol. 27.

Annexe 7

Article 2 :

American Journal of Plant Sciences, 2013, 4, 1872-1878

<http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.49230> Published Online September 2013 (<http://www.scirp.org/journal/ajps>)



Residual Effects of Sucrose and Hormonal Treatments of the Tuberization Medium on *in Vitro* Germination of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtubers

Abraham Diémé¹, Mame Abdou Nahr Samba¹, Emile Codjo Agbangba², Mame Ourèye Sy¹

¹Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop; BP 5005, Dakar- Fann, Sénégal ; ²Laboratoire d'Ecologie végétale et d'Ecohydrologie, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar - Fann, Sénégal.

Email: oureyesy1@yahoo.fr, oureyesy@ucad.edu.sn

Received July 9th, 2013; revised August 9th, 2013; accepted August 27th, 2013

Copyright © 2013 Abraham Diémé *et al.* This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Residual Effects of Sucrose and Hormonal Treatments of the TubORIZATION Medium on *in Vitro* Germination of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtubers

Abraham Diémé¹, Mame Abdou Nahr Sambe¹, Emile Codjo Agbangba², Mame Ourèye Sy¹

¹Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal; ²Laboratoire d'Ecologie Végétale et d'Ecohydrologie, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal.
Email: oureyesy1@yahoo.fr, oureyesy@ucad.edu.sn

Received July 9th, 2013; revised August 9th, 2013; accepted August 27th, 2013

Copyright © 2013 Abraham Diémé *et al.* This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

The residual effects of sucrose concentrations (80 or 100 g·L⁻¹) and hormonal treatments (BAP + Kinetin or Coumarin) of tuberization medium on *in vitro* microtubers germination of three potato varieties (*Solanum tuberosum* L.) so called Aida, Atlas and Odessa, are described. After 3 weeks of incubation at 28°C ± 1°C, 70% of Aida microtubers variety, previously formed in the MT2 medium [MS/2 + 80 g·L⁻¹ Sucrose], germinated. The best germination rate for varieties Atlas (100%) and Odessa (66.66%) was obtained on microtubers previously formed in the medium MT2 [MS/2 + 100 g·L⁻¹ Sucrose]. The addition of hormones in the tuberization medium allowed optimizing the microtubers germination of the Aida variety unlike the other varieties. Indeed, for the Aida variety, the combination M5 [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + Coum 0.025 mg·L⁻¹ + Sucrose 80 g·L⁻¹] increased the germination rate from 70% up to 93.33%. The best germination rate (90%), noticed with microtubers of Atlas variety, initially formed in M2 medium [Kin 1 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹], was lower than that one (100%) obtained on medium without hormones. For Odessa variety, the maximum germination rate (53.33%) of microtubers, from the medium M4 [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹], was also lower than that one (66.66%) observed in the medium without hormones. Aida and Atlas varieties thus offer a better germination rate than Odessa after their cold storage.

Keywords: *Solanum tuberosum*; Microcuttings; Microtubers; *In Vitro* Germination; Sucrose; Cytokinins; Coumarin

1. Introduction

The potato is the fourth largest food crop production in the world, after the three major cereals such as wheat, rice and maize. Potato culture is a strategic sector in Senegal. This production occurs from November to March in the Niayes zone, during which the North Atlantic fringe of the country benefits from winds relenting temperatures and thus allow the tuberization of this speculation. The potato culture represents 10% of the national production of vegetables and roughly 50% of trade importation. Analysis of the national potato production cost illustrates that potato seeds represent one third of importation, which heavily influences the trade balance in Senegal. Indeed, conventional seed production systems are currently completely disorganized so that the needs of quality seeds are important. Local certified pest-free seeds (5170 tons in 2010) do not cover all the national

requirements, consequently, a massive import of seeds is practiced (24,000 tons per year).

Most varieties of potatoes grown in the world are varieties with tetraploid true-seeds giving heterogeneous progeny. Thus, the use of the potato tuber as basic seed is a current practice and can easily meet the requirement of genetic conformity [1,2]. But the conventional production of potato plants is a speculation that requires significant technical expertise as produced tubers must include a minimum rate of plant pathogenic infections and any viral amount respecting the original genetic traits of the variety. The techniques developed have always strived to bring in cropping systems plant material with a minimum of infective load. For this, the traditional culture techniques obey a clonal selection model that includes a number of measures favorable to the preservation of good health status over multiplication and thus the intrinsic

sic qualities of varieties. However, this method of mass selection has severe limitations especially for latent viral infections that may be transmitted to the next generations. The advent of *in vitro* culture techniques enabled us through micropropagation to accelerate the number of seedlings produced and improve their health status while providing virus-free seeds with the development of serological detection methods such as meristem culture coupled with thermotherapy. The discovery of new chemical molecules also contributed to improve the possibilities of fight against the vectors of viral diseases such as aphids and their transmission to plants. The techniques of vegetative propagation permit getting four types of seeds: plantlets, microtubers, minitubers and tubers. Indeed, the acclimatization step of plants can be replaced by *in vitro* microtuberization *i.e.* vitrotubers production which is one of the practical ways, the most effective for the propagation of basic material, the transport of germplasm and the conservation of potatoes varieties grown after sanitation [3,4].

The *in vitro* method of vegetative multiplication allows respecting easily the imperatives of conformity such as permanency and genetic stability for different studied potato varieties [5]. Microtuberization of explants requires an important provision of sucrose and growth regulators. It was more precocious when the culture medium was enriched with cytokinins. Harmey *et al.* [6] stated that adding growth regulators increases the development of microtubers if an amount of 8% sucrose is supplied. Ebadi *et al.* [7] found healthy microtubers with 3 to 4 months of dormancy by cultivating isolated cultures of two to three nodes in bio semi-continuous bioreactors of attained microtubers in concentration above 10 mg·L⁻¹ BAP and 8% of sucrose.

The effects of hormones and sucrose on microtuberization were well documented [8] but a few were reported on the influence of these exogenous factors on microtubers germination.

The residual effect of hormones and sucrose can affect the dormancy duration of cold stored microtubers and therefore has an impact on their early germination when put to normal temperature. Indeed, increasing the sucrose concentration from 80 to 140 g·L⁻¹ during the tuberization process, it is possible to reduce the six weeks duration of Désirée microtubers dormancy of [9]. Hussey and Stacey [10] obtained immediate sprouting of microtubers produced in long days, while those induced by short days in the presence of BAP germinate more slowly and were heterogeneous.

It is important depending on the variety, to know hormonal combinations that are most favorable to the dormancy period reduction of microtubers to obtain a ho-

mogeneous and synchronous lifting of germs that can be cultivated in fields during the windy season. Indeed, this speculation is a dry-season crop in Senegal.

This present work describes the residual effect of sucrose and of growth regulators of the tuberization medium on the germination capacity of microtubers after cold storage at 4°C.

2. Material and Methods

2.1. Characteristics of Varieties

The basic material is constituted of Elite tubers of 28 - 35 mm caliber and belonging to three varieties of potato: Aïda, Atlas and Odessa. They were imported from GERMICOPA S.A. (France). These varieties were chosen because of their adaptability to Senegalese agroclimatic conditions. Tubers-young plants were virus-free according to the phytosanitary certificates (Norms of certification ISO 9001). Twenty tubers were chosen regarding the Aïda variety, 30 for the Atlas and 28 for Odessa.

Atlas is a relatively late variety, high yielding and its productivity is stable even in hard conditions. Its tubers are of big caliber, less numerous and less sensitive to desprouting and could support a prolonged storage period. Odessa is an early variety and has a good yield per hectare. Its tubers are oblong with a yellow skin and a yellow flesh and have an ability to support an average conservation period. Aïda is a late variety with an early maturity of tubers and a good yielding. Tubers are oblong and elongated pale-yellow appearance.

2.2. Microtuber Production

Microtubers were obtained by applying the protocol previously described in Dieme *et al.*, 2011. Explants consisting of mononodal cuttings were cultured on Murashige & Skoog [11] medium with halved macronutrients (MS/2) and in the presence of 80 g·L⁻¹ or 100 g·L⁻¹ Sucrose. To test the residual hormonal effect of the culture medium on the germination of microtubers, culture media were previously enriched or not (**Table 1**) with cytokinins (Kin and BAP 1 to 2.5 mg·L⁻¹) and/or Coumarin (0.025 mg·L⁻¹) for microtuber production. Agar at 8 g·L⁻¹ was used to solidify the media; the pH was adjusted to 5.9 before autoclaving at 110°C for 20 min.

2.3. Storage and Germination of Microtubers

The microtubers of the 3 varieties from different tuberization medium were harvested aseptically and previously stored in a cold room at 4°C ± 1°C for 4 months. Experiments on microtubers were conducted to determine their ability to germinate at 28°C. Three batches of 10

Table 1. Media composition for microtubers production from the microcuttings of the three varieties.

Media	Treatments
MT1	MS/2 + Sucrose 80 g·L ⁻¹
MT2	MS/2 + Sucrose 100 g·L ⁻¹
M1	MS/2 + Kin 1 mg·L ⁻¹ + BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 80 g·L ⁻¹
M2	MS/2 + Kin 1 mg·L ⁻¹ + BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 100 g·L ⁻¹
M3	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ + BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 80 g·L ⁻¹
M4	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ + BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 100 g·L ⁻¹
M5	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ + Coum 0.025 mg·L ⁻¹ + Sucrose 80 g·L ⁻¹
M6	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ + Coum 0.025 mg·L ⁻¹ + Sucrose 100 g·L ⁻¹

microtubers for each variety, with caliber between 5 and 7 mm, and obtained from different hormonal combinations were used. The microtubers were deposited aseptically on MS (0) medium [11], then incubated in a dark room at 28°C ± 1°C. A completely randomized block was used for the experiments. The number of germinated microtubers was counted after 1, 2 and 3 weeks. For each factor studied, three repetitions were performed.

2.4. Statistical Analyses

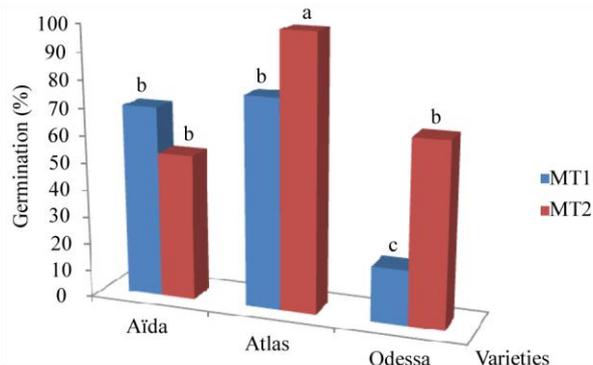
Multiple comparisons of averages and rates have been done, after analysis of variance, using the test of Student, Newman, and Keuls at the probability threshold of 5% (SPSS software).

3. Results

3.1. Influence of the Sucrose in the Tubertization Medium

The different varieties of microtubers obtained with sucrose concentrations of 80 g·L⁻¹ and 100 g·L⁻¹ are kept in a cold room and then put in 28°C ± 1°C for germination and the germination rate of microtubers determined during 3 weeks (Figures 1 and 2).

The effect of high concentrations of sucrose is expressed mainly by reducing the duration of dormancy. Indeed, to obtain 70% germination after 3 weeks at 28°C, 80 g·L⁻¹ of Sucrose in the medium of tubertization is proved sufficient for Aïda variety. Concentration of 100 g·L⁻¹ sucrose lowers the germination rate to 53.33%. In addition, the germination process begins earlier, in the presence of Sucrose at 80 g·L⁻¹. However, for the varieties Atlas and Odessa, the best germination rate is obtained in the presence of 100 g·L⁻¹ of Sucrose in the initial *in vitro* tubertization medium with 100% and 66.66% of microtubers germinated.

**Figure 1. *In vitro* germination of potato microtubers after 21 days of incubation in MT1 medium at 28°C in darkness.****Figure 2. Effect of sucrose of the tubertization medium on the microtuber germination of 3 potato varieties (Aïda, Atlas and Odessa), after 3 weeks of incubation at 28°C. MT1 = MS/2 + Sucrose 80 g·L⁻¹; MT2 = MS/2 + Sucrose 100 g·L⁻¹. Treatments followed by the same letter are not significantly different at probability level of P < 0.05 by Student-Newman-Keuls (SNK).**

3.2. Combined Effect of Kinetin and BAP and Sucrose in the Tubertization Medium

The combined effect of kinetin and BAP on Aïda variety was studied in the presence of two concentrations of Sucrose (80 g·L⁻¹ and 100 g·L⁻¹). The highest rate of microtubers germination (86.66%) was obtained with the medium M3 [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 80 g·L⁻¹] while the combination M1 [Kin 1 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + 80 g·L⁻¹ Sucrose] allows a significantly lower germination rate, of 83.33%. Increasing the concentration of Kinetin from 1 to 2.5 mg·L⁻¹ helped to raise slightly the germination rate (Figure 3).

However, increasing the sucrose concentration of 80 g·L⁻¹ up to 100 g·L⁻¹ in the best medium combination has reduced the germination rate to 66.66%. The decrease in hormonal concentration of Kinetin 2.5 mg·L⁻¹

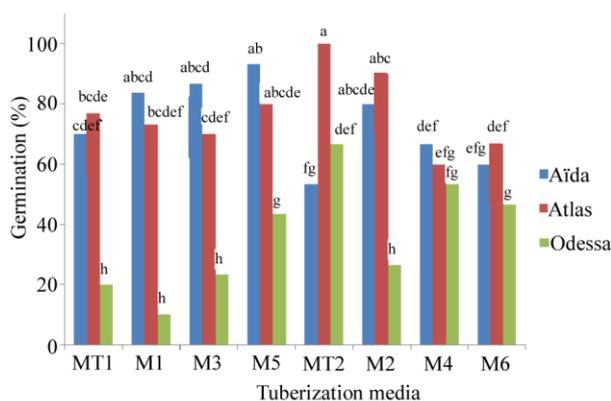


Figure 3. Hormonal effects of the tuberization medium on microtubers germination of potato varieties (Aida, Atlas and Odessa) at 28°C. MT1 = MS/2 + Sucrose 80 g·L⁻¹; M1 = MS/2 + Kin 1 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 80 g·L⁻¹; M3 = MS/2 + Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 80 g·L⁻¹; M5 = MS/2 + Kin 2.5 mg·L⁻¹ + Coum 0.025 mg·L⁻¹ + Sucrose 80 g·L⁻¹; MT2 = MS/2 + Sucrose 100 g·L⁻¹; M2 = MS/2 + Kin 1 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹; M4 = MS/2 + Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹; M6 = MS/2 + Kin 2.5 mg·L⁻¹ + Coum 0.025 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹; Treatments followed by the same letter are not significantly different at probability level of P < 0.05 by Student-Newman-Keuls (SNK).

to 1 mg·L⁻¹ in the presence of BAP 1 mg·L⁻¹ gave a higher rate (83.33%) than the M1 medium [Kin 1 mg·L⁻¹ BAP + 1 mg·L⁻¹ + 100 g·L⁻¹ sucrose] (80%).

With Atlas variety, the sucrose concentration in the culture medium most likely to give better germination rate of microtubers was 100 g·L⁻¹ with 100% of microtubers germinated after three weeks of incubation. The effect of hormones on the germination of microtubers was also appreciated in the presence of 80 g·L⁻¹ and 100 g·L⁻¹ Sucrose (Figure 3). The experiment revealed a germination rate of 90% of microtubers obtained in the M2 tuberization medium [Kin 1 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹]. By increasing the concentration of Kinetin from 1 to 2.5 mg·L⁻¹ in the hormonal combination, we noticed a decrease in microtubers germination with a maximum rate of 60%. The reduction in sucrose concentration also causes a decrease in the germination rate (73.33%) but it does not seem significantly different from 90% (Table 1).

The experiment, in Odessa variety, was performed under the same experimental conditions as those used for Aida variety. For Odessa variety, the M4 combination [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹] gave a germination rate of 53.33% after three weeks of incubation at 28°C ± 1°C in darkness (Figure 3).

The highest germination rate (23.33%) in the presence of sucrose 80 g·L⁻¹ is obtained with the combination Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹. So, this concentration of

sucrose is not favorable for the germination of microtubers of this variety in comparison to Aida variety.

3.3. Combined Effects of Kinetin and Coumarin and Sucrose in the Tuberization Medium

For Aida variety, microtubers obtained from the M5 combination [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + Coum 0.025 mg·L⁻¹ + 80 mg·L⁻¹ Sucrose], offer a germination rate of microtubers of 93.33% after a three weeks incubation time. The increase in sucrose concentration at this hormonal combination (M6 medium) gave a low rate of 60% (Figure 3 and Table 2). Compared to other hormonal combinations, it can be seen that the M5 combination, [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + Coum 0.025 mg·L⁻¹ + 80 g·L⁻¹ Sucrose], gave more germinated microtubers than the combinations M1 [Kin 1 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹] and M3 [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹].

For Atlas variety, the substitution of the BAP by Coumarin, in the combination Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + 80 or 100 g·L⁻¹ Sucrose, can increase the germination rate three weeks after incubation, with a maximum of 80% when microtubers originated from the M5 hormonal combination [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + Coum 0.025 mg·L⁻¹ + sucrose 80 g·L⁻¹]. However, for the Atlas variety, the combination M2 [Kin 1 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹] gave the best germination rate (90%).

Regarding the Odessa variety, the replacement of the BAP by Coumarin in the combination [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + Sucrose 100 g·L⁻¹] was not beneficial for this variety because there is a fall of the germination rate from 53.33% to 46.66%. For a best germination rate of Odessa microtubers after cold storage (Figure 3 and Table 2), microtuberization must be realized in a medium containing 100 g·L⁻¹ Sucrose and supplemented with Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹. The Odessa variety gave a maximum rate of germinated microtubers equal to 53.33% with the medium M4 [Kin 2.5 mg·L⁻¹ + BAP 1 mg·L⁻¹ + 100 g·L⁻¹ Sucrose] against 66.66% for the microtubers formed in the medium MT2 without hormones but supplemented with 100 g·L⁻¹ Sucrose.

4. Discussion

4.1. Effects of Sucrose Concentration of the Tuberization Medium on the Microtubers Germination

The sucrose concentration giving the best germination rate varies depending on the variety. Indeed, 80 g·L⁻¹ Sucrose gave the best germination rate for the variety Aida while those of the varieties Odessa and Atlas are obtained in the presence of 100 g·L⁻¹ Sucrose in the initial *in vitro* tuberization medium. The Atlas variety provides

Table 2. Residual effects of Sucrose and hormonal combinations on the microtubers germination of different varieties, after 3 weeks of incubation at 28°C.

Media	Treatments	Germination (%)		
		Aida	Atlas	Odessa
MT1	MS/2 + Sucrose 80 g·L ⁻¹	70.00 cdef	76.66 bcde	20.00 h
MT2	MS/2 + Sucrose 100 g·L ⁻¹	53.33 fg	100.00 a	66.66 def
M1	MS/2 + Kin 1 mg·L ⁻¹ +BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 80 g·L ⁻¹	83.33 abcd	73.33 bcdef	10.00 h
M2	MS/2 + Kin 1 mg·L ⁻¹ + BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 100 g·L ⁻¹	80.00 abcde	90.00 abc	26.66 h
M3	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ +BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 80 g·L ⁻¹	86.66 abcd	70.00 cdef	23.33 h
M4	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ +BAP 1 mg·L ⁻¹ + Sucrose 100 g·L ⁻¹	66.66 def	60.00 efg	53.33 fg
M5	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ + Coum 0.025 mg·L ⁻¹ + Sucrose 80 g·L ⁻¹	93.33 ab	80.00 abcde	43.33 g
M6	MS/2 + Kin 2.5 mg·L ⁻¹ + Coum 0.025 mg·L ⁻¹ + Sucrose 100 g·L ⁻¹	60.00 efg	66.66 def	46.66 g

Student-Newman-Keuls (SNK) analysis of difference in rates: in columns, treatments followed by the same letter are not significantly different at a probability level of 0.05.

a better ability to germinate than the other varieties.

The effect of high concentrations of sucrose is mainly expressed on reducing the duration of microtuber dormancy. Indeed, the more important is the concentration, the earlier the microtubers germinate. Thus, with Odessa and Atlas varieties, microtubers obtained in the culture medium containing 100 g·L⁻¹ Sucrose gave a higher germination percentage than those obtained with 80 g·L⁻¹. These results are consistent with those of Désiré *et al.* [9,12] who found that, by increasing the sucrose concentration from 80 to 140 g·L⁻¹ in the phase of tubercization, it is possible to reduce the duration of dormancy of Désiré variety microtubers to 6 weeks. High concentrations of sucrose (140 g·L⁻¹) and cold conditions can shorten the dormancy of microtubers. Storage at 4°C before transfer to 19°C is also favorable for the germination of microtubers whatever the time of tubercization. In all cases, the longer is the storage duration at 4°C, the more rapid and homogeneous is the germination [12].

The influence of carbohydrate nutrition on the duration of dormancy has not been highly documented. Van Isterum [13] showed a decrease in the duration of the dormancy of 5 to 8 days for tubers obtained from plants grown in the field, when the nitrogen is added during the culture.

For Aida variety, increasing the sucrose concentration in the culture medium from 80 to 100 g·L⁻¹ did not affect the germination of microtubers because we had a germination percentage at 100 g·L⁻¹ less than that of microtubers obtained at 80 g·L⁻¹. These results contrast to those found in varieties of Odessa and Atlas, and those of Désiré *et al.* [11]. We can therefore argue that the effect of high concentrations of sucrose on reducing the duration

of dormancy depends on varieties.

4.2. Effects of Hormone Concentrations and Sucrose in the Tubercization Medium on the Germination of Microtubers

In vitro tubercization of potato is cumulatively controlled by the carbon source (sucrose) and growth regulators. The influence of hormones on the germination of microtubers has not been much reported in the literature. Chinchilla [14] showed that GA₃ reduced the period of dormancy and promoted the formation of very elongated sprouts on classic tubers. Dieng [15] and Desire *et al.* [9] confirmed in their work that GA₃ does not allow the lifting of the dormancy in the classic tubers [16-18] but only stimulates the germination at the end of dormancy cycle [19,20].

For Aida variety, the combination of BAP + kinetin + 80 g·L⁻¹ Sucrose in the *in vitro* tubercization medium has allowed an earlier germination of microtubers with a maximum germination rate of 86.66% compared to that of microtubers obtained in MS (0) medium supplemented with 8% sucrose. The increase in sucrose concentration at these combinations reduces the germination rate to 80%.

For Odessa and Atlas varieties, the addition of BAP + kinetin was not beneficial for the germination of microtubers because we noticed a decrease in the rate of germination. The addition of growth regulators was not necessary to obtain a better germination rate. The contribution of hormones on the germination of microtubers varies according to varieties. As for Aida, the hormonal combination, Kin 2.5 m·L⁻¹ + Coum 0.025 mg·L⁻¹ gave the best germination rate of microtubers compared to that

one obtained in tuberization media without hormones.

Regarding Atlas variety, the contribution of growth regulators is not required; no hormonal combination has given a germination rate higher than that of tuberization control media (MT1 and MT2). According to Sidikou *et al.* [18], *in vitro* tuberization of the Atlas variety is rather optimal in the presence of BAP alone at a high concentration of 5 mg/L. Cytokinins are known to have a significant impact on the size and weight of microtubers formed [21,22]. Hussey and Stacey [10] previously obtained an immediate germination of microtubers produced in long days period, whereas those induced by short days, in the presence of BAP, germinated more slowly and heterogeneously. However, different results were obtained by studying the same factors [23].

With Odessa variety, if the concentration of kinetin is increased from 1 to 2.5 mg·L⁻¹ with 8% Sucrose, a slight increase in germination was noticed whereas with 10% Sucrose, a reduction of this rate was obtained. However, for Atlas the increasing of the concentration of kinetin to 2.5 mg·L⁻¹ causes a significant reduction in the speed and rate of germination (**Figure 3**). In a previous study [5], the *in vitro* method of vegetative multiplication used, allows respecting easily, the imperatives of conformity such as permanency and genetic stability for different potato varieties. Microtuberization of explants requires an important provision of sucrose and of growth regulators. It was more precocious when the culture medium was enriched with cytokinins. These results were in accordance with those of [24,25]. The weak mass of microtubers harvested with Atlas variety was to be correlated to its status of late variety, which did not completely achieve its period of dormancy and non optimal hormonal combinations into the tuberization media. In previous works, it was demonstrated that the more the potatoes tuber are physiologically old, the more rapid is their germination [9,26]. When microtubers are physiologically young, they are either dormant or in a slight phase of germination. Then, with aging, their germination vigor increases and therefore germination is accelerated. The effect of the size of microtubers on germination was studied by Désiré *et al.* [11]. Indeed when the microtuber diameter increases, the germination capacity is important.

The combined effect of Kinetin and Coumarin was very successful for Aida variety because the speed of germination was important and the rate is optimal (93.33%). This combination was not very effective for Odessa and Atlas varieties because the maximum germination rates are lower than those obtained in the presence of cytokinins. Couillerot [19] showed that gibberellic acid is incorporated in plant metabolism and therefore, it is not excluded that it modifies some physiological phenomena,

namely the germination of microtubers. Similarly, it can be suggested that Cytokinins and Coumarin can modify some physiological phenomena such as germination of microtubers.

With regard to the emergence and homogeneous growth of shoots stemming from Aida and Atlas microtubers, we can correlate them to a consequence of a similar physiological age inherent to the method of *in vitro* culture that synchronizes and harmonizes their development. The results allow therefore considering the possibility of a large multiplication of microtubers in a large scale, in which germinative capacity is not only important, but in which plants would have a synchronous development and growth.

5. Acknowledgements

We address our gratitude to “Fond National de Recherches Agricoles & Agro-Alimentaires” (FNRAA) which allowed the financial support to complete successfully this study, as part of the project No 09/AP 03M0010202.

REFERENCES

- [1] L. Lakhoua and O. Ellouze, “Induction de la Microtubérisation Chez *Solanum tuberosum* Variété: Spunta,” *Cinquantenaire de la Culture in Vitro Versailles (France)*, Paris, 24-25 October 1990.
- [2] FAO, “Production Year Book,” Vol. 53, 1999, pp. 170-199.
- [3] P. J. Wang and C. Y. Hu, “*In Vitro* Mass Tuberization and Virus Free Seed Potato Production in Taiwan,” *American Potato Journal*, Vol. 59, No. 1, 1982, pp. 33-37. doi:10.1007/BF02854881
- [4] C. L. Lê and G. F. Collet, “Conservation *in Vitro* de L’Assortiment Suisse des Variétés de Pomme de Terre,” *Revue Suisse d’Agriculture*, Vol. 20 No. 5, 1988, pp. 277-281.
- [5] A. Dieme, M. Sagna and M. O. Sy, “Influence of Hormonal Treatments and of Sucrose on the Microtuberization of Three Potato Varieties (*Solanum tuberosum* L.) Adapted to Agroclimatic Conditions in Senegal,” *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, Vol. 1, No. 3, 2011, pp. 69-77.
- [6] M. A. Harmey, M. P. Crowley and P. E. M. Clinch, “The Effect of Growth Regulator on Tuberisation of Cultured Stems of *Solanum tuberosum*,” *European Potato Journal*, Vol. 9, 1966, pp. 146-151. doi:10.1007/BF02364301
- [7] M. Ebadi, A. R. Iranbakhsh and G. R. Bakhshi Khaniki, “The Study of Shoot Formation and Microtuberization in Continuous and Semicontinuous Bioreactor,” *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Vol. 10, No. 6, 2007, pp. 861-867.
- [8] M. Ebadi and A. Iranbakhsh, “The Induction and Growth of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtubers (Sante Cultivar) in Response to the Different Concentrations of 6-Benzylaminopurine and Sucrose,” *African Journal of*

- Biotechnology*, Vol. 10, No. 52, 2011, pp. 10626-10635.
- [9] S. Désiré, J. P. Couillerot, J. Hilbert and L. J. Vasseur, "Protein Exchange in *Solanum tuberosum* L. during Storage and Dormancy Breaking of *in Vitro* Microtubers," *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 33, No. 4, 1995, pp. 479-487.
- [10] G. Hussey and N. J. Stacey, "In Vitro Propagation of Potato (*Solanum tuberosum* L.)," *Annals of Botany*, Vol. 48, No. 6, 1981, pp. 787-796.
- [11] T. Murashige and F. Skoog, "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays, with Tobacco Tissue Culture," *Physiologia Plantarum*, Vol. 15, No. 3, 1962, pp. 473-497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- [12] S. Désiré, J. P. Couillerot, J. Hilbert and L. J. Vasseur, "Dormancy and Germination of Microtubers of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Produced *in Vitro*: Effects of Sucrose Concentration in the Medium of Tuberization, the Shelf Life at 4°C and Treatment with Gibberellic Acid," *Acta Botanica Gallica*, Vol. 142, No. 4, 1995, pp. 371-378. doi:10.1080/12538078.1995.10515257
- [13] M. K. Van Ittersum, "Relation between Growth Conditions and Dormancy of Seed Potatoes: Effects of Nitrogen," *Potato Research*, Vol. 35, No. 4, 1992, pp. 355-364. doi:10.1007/BF02357592
- [14] C. M. Chinchilla, "Efecto Temperatura Almacenamiento y Algunas Sustancia Quimica in the Interrupcion del Papa Reposo TB (*Solanum tuberosum* L.). Cv. Atzimba," *Agronomy Costarr*, Vol. 9, No. 2, 1985, pp. 187-191.
- [15] A. Dieng, "Microtuberization and Micropropagation of Two Varieties of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Adapted to the Agro-Climatic Conditions in Senegal," Mémoire de DEA, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, FST/BV, 1993.
- [16] C. G. N. Turnbull and D. E. Hanke, "The Control of Bud Dormancy in Potato *Solanum tuberosum* Cultivar Majestic Tubers: Evidence for the Primary Role of Cytokinins and a Seasonal Pattern of Changing Sensibility to Cytokinins," *Planta*, Vol. 165, 1985, pp. 359-365. doi:10.1007/BF00392233
- [17] H. Mioduszevska and M. Biclińska-Czarnecka, "Influence of GA₃ Treatment on Acid Phosphatase Activity in Potato Tubers towards the End of Growth, in Dormancy and Sprouting," *Acta Physiologiae Plantarum*, Vol. 6, No. 21, 1984, pp. 75-81.
- [18] R. D. S. Sidikou, D. Sihachakr, D. Lavergne, A. Nato, D. Ellissèche, B. Jouan and G. Ducreux, "Study of Microtuberisation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) in the Sahel," *Revue Agriculture (Montrouge)*, Vol. 12, No. 1, 2003, pp. 7-14.
- [19] J. P. Couillerot, "Effects and Distribution of 14C-Gibberellic Acid Application to Seed after Potato Microtubers," *Phyton*, Vol. 54, 1993, pp. 67-73.
- [20] A. Dieme, "Influence de Traitements Hormonaux et du Saccharose sur la Capacité Germinative de Microtubercules de Pomme de Terre Après Conservation au Froid," Mémoire de DEA, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, FST/BV, 2006.
- [21] Y. Du Jardin, C. Hdider and J. de Rick, "Carbon Nutrition *in Vitro* Regulation and Manipulation of Carbon Assimilation in Micropropagated System. Automaten and Environmental Control in Plant Tissue Culture," Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995, pp. 411-471.
- [22] T. Roitch and R. Ehness, "Regulation of Sucrose/Sink Relations by Cytokinins," *Plant Growth Regulation Journal*, Vol. 32, 2000, pp. 359-367.
- [23] A. J. Abbot and A. R. Belcher, "Potato Tuber Formation *in Vitro*. Plant Tissue Culture and Its Agricultural Application," *Butterworths*, Vol. 11, 1986, pp. 113-122.
- [24] C. L. Lê and D. Thomas, "Production de Microtubercules de Pomme de Terre *in Vitro*: Effet de la Durée de Culture," *Recherche Agronomique Suisse*, Vol. 1, No. 11-12, 2010, pp. 404-409.
- [25] F. Mani, M. Mhamdi, T. Eттаieb and C. Annachi, "Effet du Saccharose sur la Tubérisation *in Vitro* de la Pomme de Terre (*Solanum tuberosum* L.)," *Revue Nature & Technologie*, Vol. 7, 2012, pp. 38-43.
- [26] N. J. Vakis, "Influence of Physiological Ageing of Seed Potatoes on Yield and Earliness," *Potato Research*, Vol. 29, No. 3, 1986, pp. 417-425. doi:10.1007/BF02359973

Annexe 8

Article 3 :

Advances in Bioscience and Biotechnology, 2013, 4, 986-992

<http://dx.doi.org/10.4236/abb.2013.411131> Published Online November 2013 (<http://www.scirp.org/journal/abb/>)

ABB

Environmental, morphological and physiological factors analyzes for optimization of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber *in vitro* germination

Abraham Diémé, Mame Ourèye Sy*

Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, B.P. 5005, Dakar-Fann, Sénégal

Email: *oureyesyl@yahoo.fr, oureye.sy@ucad.edu.sn

Received 18 August 2013; revised 18 September 2013; accepted 18 October 2013

Copyright © 2013 Abraham Diémé, Mame Ourèye Sy. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Environmental, morphological and physiological factors analyzes for optimization of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber *in vitro* germination

Abraham Dieme, Mame Ourèye Sy*

Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, B.P. 5005, Dakar-Fann, Sénégal

Email: oureyesy1@yahoo.fr, oureve.sy@ucad.edu.sn

Received 18 August 2013; revised 18 September 2013; accepted 18 October 2013

Copyright © 2013 Abraham Dieme, Mame Ourèye Sy. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

The microtuber is considered one of the most effective means of spreading basic materials, as well as transporting and preserving potato germplasm varieties. To define the optimal conditions for the potato microtuber *in vitro* germination of Aida, Atlas and Odessa varieties, the effects of temperature, physiological age and grade (size) were evaluated. The study conducted at three different temperature levels has demonstrated that the most favorable temperature for microtuber germination at a higher and faster germination rate was 25°C, regardless of the variety. In addition, microtubers of large caliber, greater than 4 mm, germinate more quickly, with a higher germination rate, than smaller size ones (less than 4 mm) for all genotypes. For Atlas, Aida and Odessa varieties, a germination rate equal to 86.66%, 70% and 70% respectively, was obtained for microtubers with a caliber superior to 4 mm. Physiological age influences microtuber germination. The mean length of sprouts, reached after a 7 week incubation period, was more marked at “multiple sprout” and “branched sprout” stages than at a “monosprout” stage. The average length was 2.35 cm, 2.48 cm and 1.5 cm, respectively. Thus, it is necessary to plant microtubers at a “multiple sprout” stage to optimize their yield in plants and minitubers.

Keywords: *Solanum tuberosum*; Microtubers; *In Vitro* Germination; Temperature; Size; Physiological Age

1. INTRODUCTION

Potato is a crop grown in developing countries particu-

*Corresponding author.

larly in Senegal (West Africa). Demand for that crop as well as comestible tubers, and plant for seeding purposes is steadily increasing in West African countries. Given its economic importance in the agri-food sector, potato has focused a significant amount of research, especially with varieties developed in the North that have proved well adapted to Senegalese agro-climatic conditions. In agricultural practice, the potato production cycle is mainly vegetative, tuber products constituting both an organ of asexual reproduction (seed tubers) and an edible part of the plant. The agronomic performances of seed tubers are highly dependent on dormancy but also on physiological age referred to the physiological state of the tuber at a given point in its growth. However, the use of seed tubers often exposes plants to infections, especially viral. The use of microtubers offers many advantages. With the same morphology, it is difficult to determine the physiological age of a classic tuber, especially at precocious early stages. In comparison, the reproducibility and synchronous nature of the initiation and *in vitro* tuberization allow a precise definition of the tuber growth stage [1]. Produced in an aseptic environment, microtubers represent a possible alternative for the production of potato seeds to overcome phytosanitary problems. They also have the advantages of being easily handled and requiring little space for storage. Microtubers can be planted directly in the field for the production of a very large amount of minitubers that constitute another alternative to conventional *in vitro* propagation of microcuttings. Indeed, over the past two decades, many research efforts have been made to determine the best conditions for *in vitro* microtubers production [2] and greenhouse minituber production to clarify the potential massive spread of potatoes. Potato microtubers (*Solanum tuberosum* L.) produced *in vitro* are also used in many areas of agricul-

ture as material for research [3], conservation of genetic resources and international distribution of cultivated genotypes [4], as well as certification systems [5]. In practice, large microtubers are preferred because they produce vigorous plants [6]. They are also less prone to drying out in storage, and have a short dormancy period and a high rate of survival in direct transfer into soil [7].

To define the optimal conditions for the *in vitro* germination of microtubers collected from Aïda, Atlas and Odessa varieties, this study was undertaken to assess the impact of temperature, size and physiological age.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Plant Material

The plant material represents the microtubers of three potato varieties (Aïda, Atlas and Odessa), aseptically harvested from different tuberization media [8]. Microtubers were classified in two grades: those with a caliber under 4 mm and those with a caliber over or equal to 4 mm. They were kept thereafter in Petri dishes hermetically sealed with parafilm or in jars and stored in the dark in a cold room at $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for at least 3 months.

2.2. Methods

2.2.1. Cultivation of Microtubers

Germination tests of microtubers initiated after the period of cold storage, were made at three different temperatures (25°C , 27°C and $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) to identify the optimal temperature which would induce the best germination rate. Four batches of five microtubers with different calibers (over and under 4 mm grade) were used. For each environmental factor studied, three repetitions were performed. The microtubers were aseptically seeded in culture tubes filled with an 8% agarified MS (0) medium at pH 5.9 [9] and then incubated in the dark at different temperatures (**Plate 1**). The culture media were prepared and conditioned as previously described [10]. A



Plate 1. Appearance of microtubers introduced on MS medium (0) and incubated in the dark at 25°C . 1.583 cm represents a distance of 1 cm.

weekly count of the number of microtubers sprouted was made over an 8 week period.

The impact of the microtuber size on *in vitro* germination was evaluated using six batches of 5 microtubers for each grade (over and under 4 mm caliber) and each variety. Microtubers were inoculated aseptically into test tubes filled with MS medium (0) and then incubated in the dark at $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. A weekly count of the number of microtubers sprouted is performed over an 8 week period.

The influence of physiological age on *in vitro* germination is highlighted by assessing the length parameter of the sprouts obtained. Thus, 5 microtubers, for each age class were incubated in the dark at 25°C . The sprout length of each microtuber over 4 mm caliber, at different stages “monosprout”, “multiple sprouts” and “branched sprouts”, was measured weekly over a 7 week period. The average length of sprouts is then calculated for each stage.

2.2.2. Statistical Analysis

Statistical analysis focused on the comparison of different treatments using Analysis of Variance (ANOVA), followed by a comparison of means (Student Newman-Keuls’ test) at a 5% threshold when the interaction between factors (variety*temperature; variety*caliber; variety*physiological age) is significant.

3. RESULTS

3.1. Effect of Temperature on Microtubers Germination

The experiments showed that the highest germination rates were obtained at 25°C for all varieties. However for the Atlas range, temperatures at 25°C and 2°C gave the same 85% germination rate. For Aïda and Odessa varieties, optimal germination rates of 85% and 65% were obtained at 25°C , respectively. High temperature of 30°C drastically reduced the germination rate of all varieties (**Table 1**, **Figure 1**).

Table 1. Effect of different temperatures on microtuber *in vitro* germination of three potato varieties (Atlas, Aïda and Odessa) after 8 weeks in darkness.

Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Germination rate of microtubers (%)		
	Atlas	Aïda	Odessa
25	85 a	85 a	65 bc
27	85 a	70 bc	50 cd
30	70 bc	35 d	45 cd

Treatments followed by the same letter are not significantly different at probability level of $P < 0.05$ by Student-Newman-Keuls test (SNK).

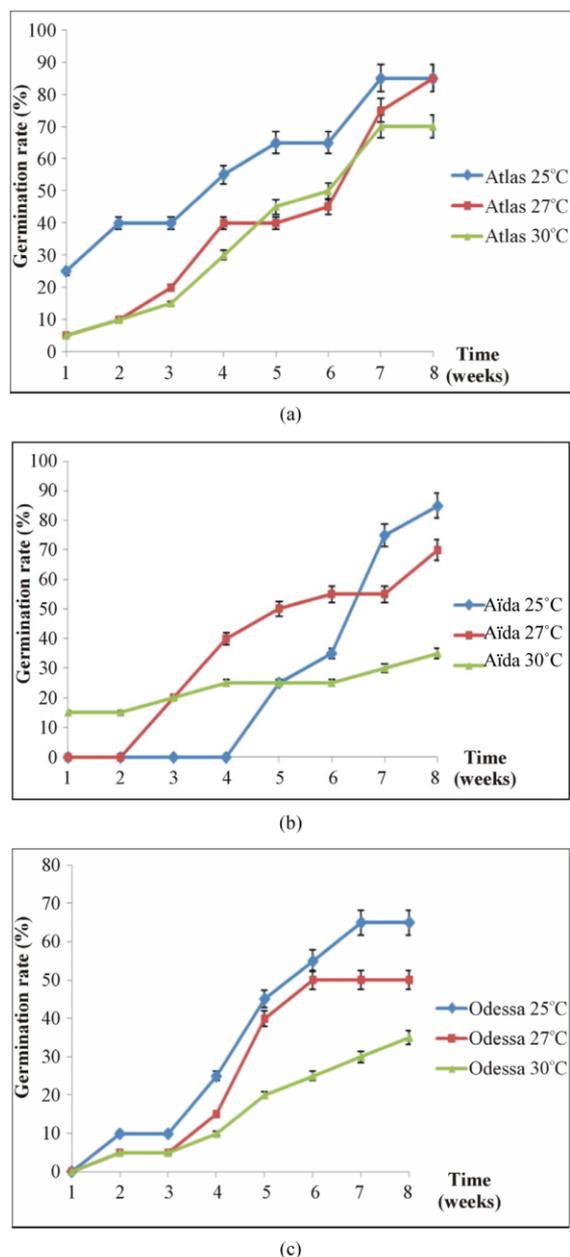


Figure 1. Kinetics of microtuber *in vitro* germination incubated at different temperatures for the 3 potato varieties (Atlas, Aïda and Odessa).

Germination kinetics showed that the Atlas variety seed quickly after incubation regardless of the temperature (Figure 1(a)). The Aïda variety had a long latency period of 4 weeks for microtubers incubated at 25°C and 2 weeks for those at 27°C (Figure 1(b)). However, once this period is exceeded, the germination rate rapidly reached 85% at 25°C and 70% at 27°C after 8 weeks of incubation. For the Odessa variety, the latency period is

short and only lasts a week, regardless of the temperature (Figure 1(c)).

3.2. Effects of Microtuber Size on *in Vitro* Germination

For all varieties, microtubers greater than 4 mm in size gave a higher germination rate than microtubers of caliber under 4 mm. Thus, the Atlas, Aïda and Odessa varieties had a germination rate equal to 86.66%, 70% and 70% respectively for the range superior to 4 mm. As for microtubers under 4 mm in size, germination rates were 73.33%, 56.66% and 40%, respectively. However, for Atlas and Aïda varieties, germination rates obtained for microtubers over 4 mm, were not significantly different from those of microtubers with a caliber under 4 mm. The difference noted between the two sizes was significant for Odessa variety. The Atlas variety microtubers yielded better (86.66% and 73.33%) regardless of the size; followed by microtubers of Aïda and Odessa varieties, respectively (Figure 2).

Germination kinetics revealed that the Atlas variety microtubers germinated faster than microtubers of the other varieties whatever the caliber. After 5 weeks of incubation, the germination rate fluctuated around 50% - 58% for the two calibers against 30% - 50% and 30% - 48% for Aïda and Odessa varieties, respectively. The microtubers of Aïda variety, after weak germination rates in the first four weeks, revealed germination rates that increased rapidly from 50% to 70% for those which size were superior to 4 mm. Microtubers of Odessa variety had a lag time of one week (Figure 3). Then, those of caliber superior to 4 mm started to germinate rapidly and reached a 70% germination rate at 8 weeks. In contrast, microtubers of size less than 4 mm germinated slowly and reached a final germination rate of 40% after the same incubation time (Figure 3).

3.3. Effect of Physiological Age on Microtuber *in Vitro* Germination

The influence of microtubers physiological age on *in*

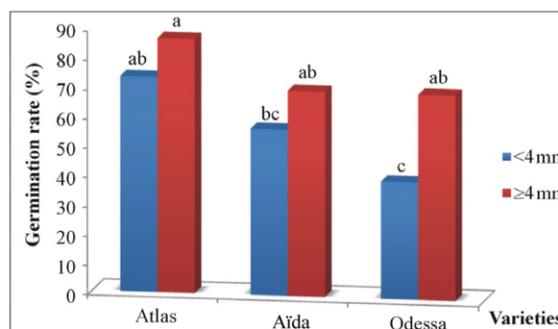


Figure 2. Size effects on the germination rate of the microtubers of the three potato varieties (Atlas, Aïda and Odessa).

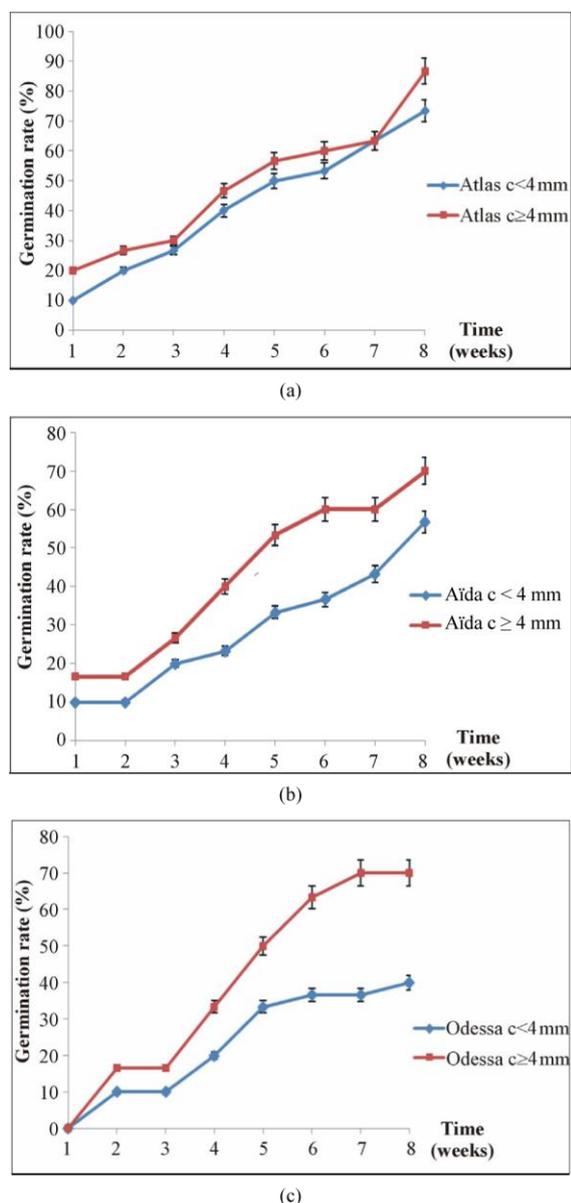


Figure 3. Kinetics of microtubers germination of different sizes of the three varieties (Atlas, Aïda and Odessa) at 25°C.

vitro germination was highlighted by assessing the length parameter of the sprouts obtained. Thus, the “multiple sprout” and “branched sprout” stages were most likely to germinate because they had an average length greater than that of the “monosprout” stage for all varieties. However, sprouts of “branched sprout” stage were less vigorous than those of “monosprout” stage, for all varieties. A Student Newman-Keuls t-Test indicated a non-significant difference in the sprout lengthening at the “multiple sprout” and “branched sprout” stages, while a significant variation was noted between these two stages

and the “monosprout” stage, regardless the variety (Table 2).

The growth of potato sprouts, according to incubation time, was studied over a 7 week period. Thus, there was a rapid growth of sprouts at “multiple sprout” and “branched sprout” stages while at “monosprout” stage, growth was slow along the 7 weeks (Figure 4). During the first 3 weeks after germination, the growth rate of sprouts was weak and did not reach 1.5 cm for all varieties. Then, it increased progressively. For the Odessa variety, the average maximum length measured after 7 weeks of incubation for “multiple sprout” “branched sprout” and “monosprout” stages was respectively 2.35 cm, 2.48 cm and 1.5 cm. For the two other varieties, sprouts of the “branched sprout” stage were longer at 2.39 and 2.82 cm, respectively.

4. DISCUSSION

At harvest, the potato tuber is in a dormant phase in which no germination can occur even under favorable environmental conditions. The same status occurs for microtubers obtained from tissue culture. This dormancy is similar to that of dry seeds which is an innate seed property that defines the environmental conditions under which the seed is able to germinate. It is determined by genetics with a substantial environmental influence. The process is mediated, at least in part, by the plant hormones abscisic acid and gibberellins. The dormancy status is not only influenced by the seed maturation environment, but also changes continuously over time after shedding, and it also determined by ambient environmental conditions [11]. Seed dormancy is a block to the completion of germination in an intact viable seed under favorable conditions [12,13]. A useful definition of dormancy has been proposed by [14]: a dormant seed does not have the capacity to germinate in a specified period of time under any combination of normal physical environmental factors that are otherwise favorable for its germination, *i.e.* after the seed becomes non-dormant.

Germination and growth of seedlings are controlled by gibberellins and abscisic acid contents, mainly accompanied by an increase in respiratory activity and water loss, as well as a significant degradation of starch and simple

Table 2. Influence of physiological age on the microtuber *in vitro* germination of the three varieties at 25°C.

Physiological age	Mean length of sprouts (cm)		
	Atlas	Aïda	Odessa
Monosprout	1.3 c	1.1 c	1.5 c
Multiple sprout	2.35 a	2.14 b	2.298 ab
Branched sprout	2.39 a	2.282 b	2.478 a

Treatments followed by the same letter are not significantly different at the probability level of $P < 0.05$ by Student-Newman-Keuls test (SNK).

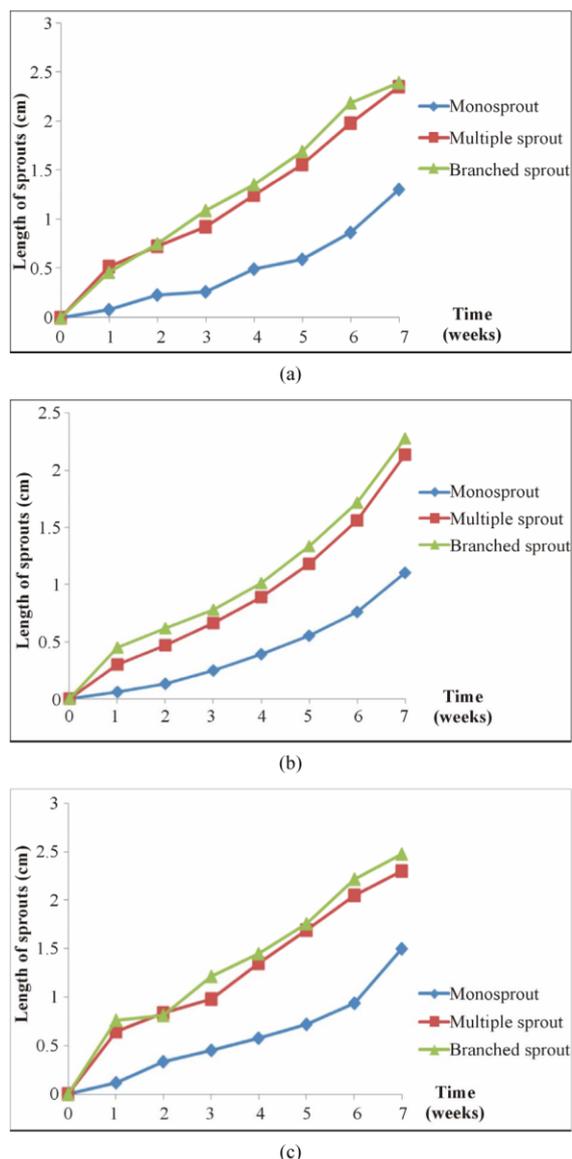


Figure 4. Growth kinetics of the microtuber sprouts at 25°C at different physiological stages of the three varieties Atlas (a), Aida (b) and Odessa (c).

sugars [15]. Temperature is the element that contributes most to maintaining the quality of stored seeds and potato microtubers as well. It affects respiration, germination, water loss, relative humidity, chemical composition of tubers and the occurrence of diseases during the storage period. Reference [16] Désiré *et al.* (1995) showed that exposure to a period of cold can shorten the dormancy of microtubers and that storage at 4°C before transfer to 19°C, is also favorable for the germination of microtubers and this regardless of tuberization time.

These results are consistent with our findings. At the

temperatures studied (25°C, 27°C and 30°C) during the incubation time, the lower the germination rate, the slower the germination speed. Average temperatures below 30°C were more favorable for microtuber germination as excess heat produced also developed sprouts, while cold temperatures result in deformed tuber. Indeed, for all varieties, the most favorable temperature for microtuber germination was 25°C, followed by 27°C. With these results, it can be concluded that average incubation temperatures are more favorable for microtuber germination than higher temperatures. These results confirm those of [17] who argued that the proper temperature for tuber germination is between 18°C and 25°C.

Germination is a series of morphological, physiological and biochemical processes that result in the transformation of the seedling during the development of the future plant's organs [18]. Organ development—leaves, stems and roots—occurs as a result of cell division and growth in the embryo. It is based on a series of chemical and physical transformations at a higher level of organization and integration [19]. The germination process is genetically programmed and modulated by the environment. Thus, when the tuber is placed in favorable environmental conditions, the higher the number of sprouts, the greater tuber size and weight [20]. Reference [21] Désiré *et al.* (1995) assumed that the germination vigor of microtubers depends on their size. Indeed, when the size increases, the pool of reserves, particularly carbohydrates, is important and could thus be conducive to plant development. These results are consistent with our findings as the study of microtuber calibers on germination revealed that microtubers greater than 4 mm germinate faster and at a higher rate than microtubers sized less than 4 mm, for all genotypes. Similarly, the sprouts of small-size microtubers take longer to reach a given length than those of microtubers of greater grades.

The potato tuber seed is considered as a model organ for a study of the aging plant [22-25]. In addition, physiological age strongly influences its germination profile and agronomic performances. The physiological state of the mother-tuber not only affects germination, the speed and growth capacity of sprouts, but also has a significant impact on the development and productivity of plants arising from the tuber [24]. To assess the “physiological age” parameter, the average length of sprouts formed was measured at each physiological stage of the microtubers. Thus, rapid growth was recorded at “multiple sprout” and “branched sprout” stages as opposed to slow growth at the “monosprout” stage. These results confirm those of [26], who suggested that germination rate can be measured by the weight or length of sprouts formed over a period of time. That process is initially low in the period immediately subsequent to the end of dormancy. It then gradually increases to a maximum and decreases to

zero when sprouts start forming new tubers again. References [27,28] also demonstrated that as potato tubers get physiologically older, germination occurs proportionally faster. When physiologically young, microtubers are either dormant or in a phase of insignificant germination. Then, as they get older, their germination vigor increases and germination is therefore accelerated. In the same manner, reference [26] confirmed that during the dormant phase, the inability to grow is not necessarily a specific characteristic of buds, but may result in a temporary inability of the tuber to provide some metabolites necessary for growth. These results are consistent with our findings because with the Odessa variety, a latency period occurred during a week. This can be explained by the fact that microtubers were still dormant when put to germinate. At the end of dormancy, metabolites are released, making it possible for sprouts to grow from the tuber. This release is gradual and as, the tuber gets physiologically older, allows a more rapid growth of an increasing number of sprouts.

Microtubers, at “multiple and branched sprout” stages are more likely to germinate than sprouts of the “monosprout” stage, with an average maximum sprout length of 2.35 cm, 2.48 cm and 1.5 cm, respectively. These results confirm those of [29] and [24] explaining that the physiological state of a tuber, at a given time, determines vegetative growth. The “monosprout” stage is characterized by an apical dominance, the “multiple sprout” stage by multiple germinations and rapid growth of sprouts and the “branched sprouts” stage by stunted sprouts [30].

Experiments on the influence of temperature, size and physiological age on the *in vitro* germination of microtubers have enable us to conclude that the average temperature of 25°C is the most favorable for the germination of microtubers at a better and faster rate, irrespective of the variety. Microtubers with a grade greater than 4 mm, germinated more quickly, and at a higher rate, than those of a smaller caliber for all genotypes. Physiological age influenced microtuber germination. In fact, the mean length of sprouts was greater at “multiple sprout” and “branched sprout” stages than at a “monosprout” stage. Thus, it is necessary to plant microtubers at the “multiple sprout” stage to optimize their performance for the vegetative growth of plants and minituber production.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful to Mrs. Aminata Sow for correcting the English version of the manuscript.

REFERENCES

- [1] Charles, G., Rossignol, L. and Rossignol, M. (1995) Mise au point d'un modèle de développement et de tubérisation contrôlés et synchrones chez lapomme de terre cultivée *in vitro*. *Acta Botanica Gallica*, **142**, 289-300. <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.1995.10515245>
- [2] Désiré, S., Couillerot, J.P. and Vasseur J. (1995) Germination en serre des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produit *in vitro*: Influence du diamètre, de la densité de la plantation et de l'âge des microtubercules sur le rendement. *Acta Botanica Gallica*, **142**, 379-387. <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.1995.10515258>
- [3] Coleman, W.K., Donnelly, D.J. and Coleman, S.E. (2001) Potato microtubers as research tools: A review. *American Journal of Potato Research*, **78**, 47-55. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02874824>
- [4] Estrada, R., Tovar, P. and Dodds, J.H. (1986) Induction of *in vitro* tubers in a broad range of potato genotypes. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **3**, 3-10. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00043915>
- [5] Slimmon, T., Machado, V.S. and Coffin, R. (1989) The effect of light on *in vitro* microtuberization of potato cultivars. *American Potato Journal*, **66**, 843-848. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02853965>
- [6] Wiersema, S.G., Cabello, R., Tovar, P. and Dodds, J.H. (1987) Rapid seed multiplication by planting into beds microtubers and *in vitro* plants. *Potato Research*, **30**, 200-214. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02357690>
- [7] Leclerc, Y., Donnelly, D.J. and Seabrook, J.E.A. (1994) Microtuberization of layered shoots and cuttings of potato: The influence of growth regulators and incubation periods. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **37**, 113-120. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00043604>
- [8] Dieme, A., Sagna, M. and Sy, M.O. (2011) Influence of hormonal treatments and of sucrose on the microtuberization of three potato varieties (*Solanum tuberosum* L.) adapted to agroclimatic conditions in Senegal). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, **1**, 69-77.
- [9] Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, **15**, 473-497. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- [10] Diémé, A., Sambe, M.A.N., Agbangba, E.C. and Sy, M.O. (2013) Residual effects of sucrose and hormonal treatments of the tuberization medium on *in vitro* germination of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers. *American Journal of Plant Sciences*, **4**, 1872-1878. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.49230>
- [11] Finch-Savage, W.E. and Leubner-Metzger, G. (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, **171**, 501-523. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>
- [12] Bewley, J.D. (1997) Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, **9**, 1055-1066. <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055>
- [13] Li, B.L. and Foley, M.E. (1997) Genetic and molecular control of seed dormancy. *Trends in Plant Science*, **2**, 384-389. [http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)90053-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(97)90053-4)
- [14] Baskin, J.M. and Baskin, C.C. (2004) A classification

- system for seed dormancy. *Seed Science Research*, **14**, 1-16. <http://dx.doi.org/10.1079/SSR2003150>
- [15] Burton, W.G. (1989) The potato. Longman Scientific & Technical, Harlow, England, 365-522.
- [16] Désiré, S., Couillerot, J.P., Hilbert, J.L. and Vasseur J. (1995) Dormance et germination des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produit *in vitro*: Effets de la concentration en saccharose du milieu de tubérisation, de la durée de conservation à 4°C et d'un traitement avec de l'acide gibbérellique. *Acta Botanica Gallica*, **142**, 371-378. <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.1995.10515257>
- [17] Bryan, J.E. (1990) Rupture de la dormance des tubercules de pomme de terre. *Guide de recherche du C.I.P.* 16, Cambridge University Press, Cambridge, 41-45.
- [18] Côme, D. and Corbineau, F. (1992) Les semences et le froid. Les végétaux et le froid, Hermann, Paris, 401-461.
- [19] Camelia, F.T., Morar, G., Teodora, F. and Moldovan, C. (2011) Research regarding the influence of the caliber and the seeds treatment on the seeds germination in interaction with the genotype. Scientific Papers, *UASVM Bucharest, Series A, Vol. LIV*, 2011.
- [20] Mikou, K., El Yamani, J. and Jarrar, O. (2003) Étude comparative des performances en production de quelques générations de *Solanum tuberosum* consommées au Maroc. *Actes de l'Institut Agronomique et Vétérinaire*, **23**, 143-151.
- [21] Désiré, S., Couillerot, J.P., Hilbert, J.L. and Vasseur, J. (1995) Protein changes in *Solanum tuberosum* during *in vitro* tuberization of nodal cuttings. *Plant Physiology and Biochemistry*, **33**, 303-310.
- [22] Kumar, G.N.M. and Knowles, N.R. (1996) Oxidative stress results in increased sinks for metabolic energy during aging and sprouting of potato seed-tubers. *Plant Physiology*, **112**, 1301-1313.
- [23] Kumar, G.N.M., Houtz, R.L. and Knowles, N.R. (1999) Age-induced protein modifications and increased proteolysis in potato seed-tubers. *Plant Physiology*, **119**, 89-100. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.119.1.89>
- [24] Coleman, W.K. (2000) Physiological ageing of potato tubers: A review. *Annals of Applied Biology*, **137**, 189-199. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00050.x>
- [25] Zabrouskov, V., Kumar, G.N.M., Spychalla, J.P. and Knowles N.R. (2002) Oxidative metabolism and the physiological age of seed potatoes are affected by increased α -linolenate content. *Physiologia Plantarum*, **116**, 172-185. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1160206.x>
- [26] Perennec, P. and Madec, P. (1980) Age physiologique du plant de pomme de terre. Incidence sur la germination et répercussions sur le comportement des plantes. *Potato Research*, **23**, 183-199. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02356268>
- [27] Vakis, N. J. (1986) Influence of physiological ageing of seed potatoes on yield and earliness. *Potato Research*, **29**, 417-425. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02359973>
- [28] Désiré, S., Couillerot, J.P., Hilbert, J.L. and Vasseur, J., (1995) Protein changes in *Solanum tuberosum* L. during storage and dormancy breaking of *in vitro* microtubers. *Plant Physiology and Biochemistry*, **33**, 479-487.
- [29] Reust, W. (1986) EAPR working group physiological age of the potato. *Potato Research*, **29**, 268-271.
- [30] Johnson, S.B. (1997) Selecting, cutting and handling potato seed. *University of Maine*. <http://www.umext.maine.edu/onlinepubs/htmpubs/2412.htm>

Annexe 9 : Communication orale

DIEME A., SAGNA M. & SY M. O. (2007). Effet rémanent d'hormones et de la source de carbone sur la germination *in vitro* de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *In*: Livret des Journées Jeunes Chercheurs, UCAD-IRD 2007, Thème : Sciences et Développement, page 30. Auditorium de l'UCAD, 11-12 juillet, Dakar, Sénégal.

JOURNEES JEUNES CHERCHEURS

UCAD-IRD 2007

Sciences et développement

11-12 Juillet 2007
Auditorium de l'UCAD II



- 16 : 15 - 16 : 30 Papa El hadji Omar GUEYE : Polymorphisme allélique des gènes MSP-1 et MSP-2 de *Plasmodium falciparum* chez des paludéens recrutés à Pikine de 2004 à 2006
- 16 : 30 - 17 : 30 **Session « Pauvreté - Migrations - Sécurité alimentaire »**
Présidente de séance : Awa NIANG, UCAD
- 16 : 30 - 16 : 45 Ndèye Bouba MBENGUE : Diversité génétique et amélioration de l'itinéraire technique de production du bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.) pour le marché national et d'export
- 16 : 45 - 17 : 00 Mamour TOURE : Application en milieu naturel d'une souche locale d'un champignon contre les essaims de criquets sénégalais
- 17 : 00 - 17 : 15 Isidor Marcel Sène : Perceptions paysannes des changements climatiques et stratégies d'adaptation
- 17 : 15 - 17 : 30 Aissatou Teigne DIOUF : Medias et développement : l'impact de la radio sur l'émigration clandestine

JEUDI 12 JUILLET

- 9 : 00 - 11 : 00 **Session « Biotechnologies et développement durable »**
Présidente de séance : Ourèye SY, UCAD
- 9 : 00 - 9 : 15 Mahamadou THIAM : Développement et optimisation d'un système de transformation génétique via *Agrobacterium tumefaciens* chez quelques variétés de Niébé [*Vigna unguiculata* L. walp] cultivées au Sénégal
- 9 : 15 - 9 : 30 Abraham DIEME : Effet rémanent d'hormones et de la source de carbone sur la germination *in vitro* de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum*.L)
- 9 : 30 - 9 : 45 Badara GUEYE : Etude des étapes précoces de la multiplication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par embryogenèse somatique *in vitro* : initiation de la callogenèse primaire
- 9 : 45 - 10 : 00 Mame Abdou Nahr SAMBE : Conservation du germplasm de Baobab : *Adansonia digitata* L. (*Bombacaceae*) par multiplication végétative *in vitro*
- 10 : 00 - 10 : 15 Sékouna DIATTA : Apport des biotechnologies à la production fourragère : régénération *in vitro* de *Maerua crassifolia*, Forsk
- 10 : 15 - 10 : 30 Dioumacor FALL : Impact de l'inoculation par des rhizobiums sur la production de gomme arabique et le fonctionnement microbien des sols sous-jacents
- 10 : 30 - 10 : 45 Arsène SANON : Les champignons mycorrhiziens : outil biologique pour restaurer et promouvoir la biodiversité végétale des sols dégradés
- 10 : 45 - 11 : 00 Fidèle Molélé MBAÏNDINGATOLOUM : Insémination artificielle chez les chèvres sahéliennes au Tchad : essai de détermination de doses hormonales minimales efficaces pour la synchronisation des chaleurs

Effet rémanent d'hormones et de la source de carbone sur la germination in vitro de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum*.L)

Abraham DIEME

Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie
Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop
E-mail : diemeabraham@yahoo.fr

La filière de pomme de terre au Sénégal se heurte à de nombreuses difficultés liées à l'approvisionnement en semences de qualité. Ainsi, dans le cadre d'un projet de recherche-développement financé par le FNRAA sur la production *in vitro* de semences de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Sénégal, nous avons entrepris d'améliorer la germination des microtubercules de cette espèce. En effet, la production de microtubercules est l'un des moyens les plus efficaces pour la propagation de matériel de base, le transport de germplasm et la conservation des variétés de pomme de terre cultivées après assainissement. Dans cette optique et pour s'affranchir des contraintes liées à la disponibilité de semences de pomme de terre avec un grand pouvoir germinatif, nous avons étudié l'influence de cytokinines et de deux concentrations en saccharose sur la germination *in vitro* de microtubercules de trois variétés de pomme de terre (Aïda, Atlas et Odessa) adaptées à nos conditions agro climatiques.

Les microtubercules ont été obtenus sur des miniboutures introduites sur trois gammes de milieux de tubérisation MS/2 enrichies en saccharose (80 et 100 g.L⁻¹) et complémentés ou non en cytokinines (Kinétine et BAP ; 1 - 2,5 mg.L⁻¹) et/ou en Coumarine (0,025 mg.L⁻¹). Ils ont ensuite été conservés au froid pendant 4 mois durant leur phase de dormance. Pour tester leur capacité germinative à la sortie du froid, les microtubercules ont été ensemencés, en condition stérile, sur le milieu MS(0) et incubés à l'obscurité à 28°C. Après trois semaines d'incubation, 70% des microtubercules de la variété Aïda, formés au préalable dans le milieu MS(0) + Saccharose 80 g.L⁻¹ ont germé. Le meilleur taux de germination pour les variétés Atlas (100%) et Odessa (66,66%) a été constaté sur les microtubercules qui s'étaient formés dans le milieu MS(0) + 100 g.L⁻¹ de Saccharose. L'adjonction d'hormones dans les milieux de tubérisation a permis d'optimiser le taux de germination de la variété Aïda contrairement aux deux autres variétés. En effet, pour la variété Aïda, la combinaison Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coumarine 0,025 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹ a augmenté le taux de germination de 70% à 93,33%. En revanche, le meilleur taux de germination (90%) obtenu sur la variété Atlas avec la combinaison Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹ est inférieur à celui (100%) obtenu sur milieu sans hormones. Pour Odessa, le taux de germination maximal (53,33%) enregistré sur le milieu Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹ est aussi inférieur à celui (66,66%) constaté dans le milieu dépourvu d'hormones.

Les variétés Aïda et Atlas offrent donc un meilleur taux de germination que Odessa après leur conservation au froid.

Ces résultats permettent d'envisager la possibilité d'une multiplication en masse de microtubercules dont la capacité germinative est importante pour pouvoir fournir des plants à développement synchrone. De ce fait, il est envisageable de les utiliser comme semences pour limiter les importations et augmenter la production agricole au Sénégal.

Mots-clés : *Solanum tuberosum*, miniboutures, microtubercules, germination *in vitro*, saccharose, cytokinines, coumarine.

Effet rémanent d'hormones et de la source de carbone sur la germination *in vitro* de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.)

DIEME¹ Abraham, SAGNA¹ Maurice, SY¹ Mame Ourèye

¹ Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, EST, UCAD, Dakar – Fann, Sénégal

Journées jeunes chercheurs 2007




GENERALITES

Plante **alimentaire et économique**, 5ème rang mondial de l'alimentation humaine

✓ **Importance** : 10% de la production nationale de légumes, 50% de l'importation.




considérable en main-d'œuvre.

OBJECTIFS

- ☞ Utilisation des **microtubercules** comme **semence**.
- ☞ Tester l'effet rémanent du **saccharose** du milieu de microtubérisation sur la capacité germinative des microtubercules formés.
- ☞ Action combinée des **activateurs de croissance** et du **saccharose** du milieu de microtubérisation sur la **germination des microtubercules** formés.

METHODOLOGIE






Trois variétés testées : **Aïda, Atlas et Odessa**

A- Débourement des germes.
 B- Introduction des germes sur le milieu MS(0).
 C- Vitroplants issus des germes.
 D- Vitroplants découpés aseptiquement en **boutures uninodaux** et introduits sur milieu MS/2, **Saccharose** (80 ou 100 g.L⁻¹), enrichi ou non en **cytokinines** (**Kinetin** et **BAP** ; 1-2,5 mg.L⁻¹) et / ou en **Coumarine** (0,025 mg.L⁻¹) ; pH 5,9 et solidifié à l'agar 8 g.L⁻¹.

Germination des microtubercules à 20°C ±1°C, à l'obscurité pendant 72 j.

METHODOLOGIE



Microtubercules formés (**Aïda**)

Conditions expérimentales

- ✓ Milieu de **Murashige & Skoog (1962)**, saccharose 20 g.L⁻¹ ; agar 8 g.L⁻¹ ; pH 5,7.
- ✓ Cinq microtubercules / bocal sont aseptiquement déposés sur le milieu.
- ✓ Incubation à l'**obscurité** à 28°C ±1°C.

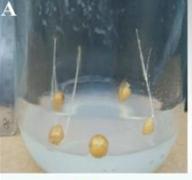
Paramètre d'étude

- ✓ **Taux de germination** / milieu / variété.
- ✓ Comparaison des **milieux de culture entre variété**.

Logiciels d'analyse : **SPSS, XLSTAT**.

RESULTATS

Germination *in vitro* des microtubercules





Aïda Atlas Odessa

Microtubercules en germination

Annexe 10 : Communications affichées (posters)

Communication affichée 1

DIEME A., SAGNA M. & SY M. O. (2007). Influence de traitements hormonaux et du saccharose sur la microtubérisation et la capacité germinative de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) après conservation au froid. Journée Africaine de la Science et de la Technologie. Ministère de la Recherche Scientifique – ANSTS, 10 Juillet, Dakar, Sénégal.

Communication affichée 2

DIEME A., SAGNA M. & SY M. O. (2012). Production de minitubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) : Influence du calibre et du ratio sur le rendement des plants en serre. *In*: Livret des communications, Doctoriales 2012, 3^{ème} Edition. Thème : Le financement de la recherche au Sénégal, Ecole Doctorale « Sciences de la vie, de la santé et de l'environnement : ED-SEV », Poster 13, pp 56-57, UCAD II, Dakar, Sénégal, 16-17 Janvier.

Communication affichée 1

Influence de traitements hormonaux et du saccharose sur la microtubérisation et la capacité germinative de microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) après conservation au froidDIEME¹* Abraham, SAGNA¹ Maurice, SY¹** Mame Ourèye

1. Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar - Fann, Sénégal

* : diemeabraham@yahoo.fr

** : ourcyesy1@yahoo.fr



INTRODUCTION

Dans le cadre d'un projet de recherche-développement sur la production *in vitro* de semences de pomme de terre au Sénégal, nous avons entrepris d'améliorer la germination des microtubercules de cette espèce, obtenus par tubérisation *in vitro*. En effet, la production de microtubercules est l'un des moyens les plus efficaces pour la propagation de matériel de base, le transport de germplasm et la conservation des variétés de pomme de terre cultivées après assainissement. Elle permet, à n'importe quelle période de l'année, l'obtention de semences saines prêtes à être plantées et susceptibles d'être expédiées à grande distance sans précaution particulière. Dans cette optique, et pour s'affranchir des contraintes liées à l'approvisionnement et à la disponibilité de semences de pomme de terre ayant un grand pouvoir germinatif, nous avons étudié l'influence de traitements hormonaux et de la source de carbone sur la microtubérisation et la capacité germinative des microtubercules de trois variétés de pomme de terre (Aïda, Atlas et Odessa) après leur conservation au froid (4°C).

MATERIELS & METHODES

I - Microtubérisation

➤ Matériel végétal

Des tubercules Elite de pomme de terre (variétés : Aïda, Atlas & Odessa) ont été nettoyés puis placés en conditions de prégermination à l'obscurité à 25°C (Fig. 1). Les germes déboussés sont désinfectés à HgCl₂ à 0,1 % et mis en culture aseptiquement dans un milieu solide de Murashige & Skoog (1962). Les vitroplants néoformés (Fig. 2) de 3 à 6 entrenœuds ont servi à la microtubérisation selon le protocole défini par Sy et al. (1997).



Figure 1 : Pré-germination de tubercules de 3 variétés de pomme de terre.



Figure 2 : Aspects des vitroplants des 3 variétés de pomme de terre

➤ Composition des milieux de culture

Les microboutures comportant chacune un nœud à un bourgeon axillaire sont ensemencées aseptiquement sur milieu MS/2 en présence de 80 ou 100 g.L⁻¹ de saccharose. Les milieux de culture ont été enrichis ou non en cytokinine (Kinétine et BAP: 1 à 2,5 mg.L⁻¹) et/ou en Coumarine (0,025 mg.L⁻¹). Les milieux de culture à pH 5,9 ont été solidifiés avec l'agar à 8 g.L⁻¹ et autoclavés à 110°C; 20mn. Après ensemencement, les cultures ont été incubées à l'obscurité à 20°C ± 1°C.

➤ Dispositif expérimental

Pour chaque traitement, l'unité expérimentale est formée d'un bocal rempli de 50 ml de milieu MS/2 et contenant 20 explants. Le dispositif expérimental adopté est une randomisation totale de 8 traitements par variété; soit 240 bocaux au total. Le rendement de chaque variété par milieu a été vérifié.

II- Germination des microtubercules

Les microtubercules, récoltés aseptiquement ont été conservés à 4°C pendant 4 mois. Pour connaître le taux de microtubérisation germés à 28°C, des lots de 10 microtubercules, obtenus à partir de différents milieux de tubérisation, ont été utilisés. Ces microtubercules sont déposés sur le milieu MS(O); puis incubés à l'obscurité. Un décompte hebdomadaire du nombre de microtubercules germés est fait pour chaque combinaison hormonale.

RESULTATS

A- Microtubérisation

Le taux de tubérisation des vitroplants des 3 variétés de pomme de terre varie entre 22 et 91% après 72 jours d'incubation. Ces résultats sont consignés sur le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Effets combinés des hormones et du saccharose sur la microtubérisation *in vitro* des vitroplants de trois variétés de pomme de terre.

Traitements	Taux de microtubérisation (%) par variété		
	Aïda	Atlas	Odessa
MS/2 solide + Saccharose 80g.L ⁻¹	91 a	22 j	46 gh
MS/2 solide + saccharose 100g.L ⁻¹	77,5 bc	28,5 i	67 cde
MS/2 solide + Kin 1mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + saccharose 80g.L ⁻¹	61,5 def	66,5 cde	69 cde
MS/2 solide + Kin 1mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + saccharose 100g.L ⁻¹	55,5 efg	43,5 gh	66,5 cde
MS/2 solide + Kin 2,5mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + saccharose 80g.L ⁻¹	67 cde	51,5 fg	71 cd
MS/2 solide + Kin 2,5mg.L ⁻¹ + BAP 1mg.L ⁻¹ + saccharose 100g.L ⁻¹	88,5 a	37,5 hi	74,5 cd
MS/2 solide + Kin 2,5mg.L ⁻¹ + Coum 0,025mg.L ⁻¹ + Saccharose 80g.L ⁻¹	85,5% ab	43,5 gh	51 fg
MS/2 solide + Kin 2,5mg.L ⁻¹ + Coum 0,025mg.L ⁻¹ + saccharose 100g.L ⁻¹	66,5 cde	28 i	31,5 i

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de la probabilité P=0,05 (Test de Newman-Kuels).

➤ Action du saccharose sur la microtubérisation

La variété Aïda présente une meilleure aptitude à la microtubérisation avec un taux de 91%, par contre ceux d'Odessa et d'Atlas sont respectivement de 67% et 28,5%. La concentration de saccharose la plus favorable à la microtubérisation est de 80 g.L⁻¹ pour Aïda et 100 g.L⁻¹ pour Odessa et Atlas.

➤ Action combinée de kinétine + BAP et du saccharose

La combinaison MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹ favorise mieux la tubérisation *in vitro* des miniboutures de la variété Aïda, avec un taux de 88,5%. Celui de la variété Odessa équivaut à 74,5%. La combinaison MS/2 + Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹ est la plus efficace pour la variété Atlas, avec un taux de tubérisation de 66,5%. En outre, la variété Aïda tubérise mieux *in vitro* lors de l'adjonction de la combinaison hormonale Kinétine + BAP comparativement aux variétés Odessa (74,5%) et Atlas (66,5%).

➤ Action combinée de Kinétine + Coumarine et du saccharose

Le taux de microtubérisation varie de 28 à 85,5%. La combinaison MS/2 + Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,025 mg.L⁻¹ + Saccharose 80 g.L⁻¹ est plus propice à la microtubérisation pour toutes les variétés. Ainsi, on a un taux optimal de 85,5% pour la variété Aïda, 51% pour Odessa et 36% pour la variété Atlas. La substitution de la BAP par la coumarine dans la combinaison hormonale n'a pas été bénéfique à la microtubérisation des différentes variétés (Fig 3).

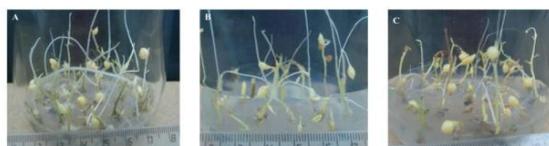


Figure 3 : Influence du saccharose, des cytokinines et de la coumarine sur la microtubérisation des trois variétés de pomme de terre (Aïda (A), Atlas (B) et Odessa (C)).

B- Germination des microtubercules

➤ Influence du saccharose sur la germination des microtubercules

Pour obtenir 70% de taux de germination après 3 semaines d'incubation à 28°C, 80 g.L⁻¹ de saccharose s'avèrent suffisant pour la variété Aïda contrairement à la variété Atlas où 100 g.L⁻¹ de saccharose sont nécessaires. Le meilleur taux de germination des microtubercules de la variété Odessa (66,66%) est obtenu également avec 100 g.L⁻¹ de saccharose (Fig 4).

➤ Effets des hormones et du saccharose sur la germination des microtubercules

La combinaison Kin 2,5 mg.L⁻¹ + Coum 0,025 mg.L⁻¹ + saccharose 80 g.L⁻¹ donne un taux de germination (93,33%) plus élevé pour la variété Aïda que les autres combinaisons. La combinaison Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + Saccharose 100 g.L⁻¹ donne le meilleur taux de germination (90%) pour la variété Atlas. Quant à la variété Odessa, il faut réaliser la microtubérisation dans un milieu contenant 100 g.L⁻¹ de saccharose et enrichi avec Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ (Fig 5 et 6), pour un taux de germination optimal. L'incidence des hormones sur la germination des microtubercules varie en fonction des variétés.

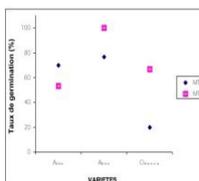


Figure 4 : Effets du saccharose sur la germination des microtubercules des variétés Aïda, Atlas et Odessa après 3 semaines d'incubation à 28°C.

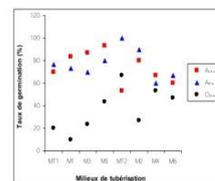


Figure 5 : Effets des hormones du milieu de tubérisation sur la germination des microtubercules des variétés Aïda, Atlas et Odessa à 28°C.

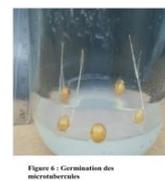


Figure 6 : Germination des microtubercules

CONCLUSION

La microtubérisation des microboutures nécessite un apport important de saccharose et de régulateurs de croissance. Elle est plus précoce lorsque le milieu de culture est enrichi en cytokinines (Kin et BAP) et en coumarine à des concentrations de 0,025 - 2,5 mg.L⁻¹. L'effet de la concentration en saccharose sur la germination se traduit généralement par la réduction de la durée de la dormance. L'augmentation de la concentration en saccharose de 80 g.L⁻¹ à 100 g.L⁻¹ a permis une augmentation du taux et de la vitesse de germination pour les variétés Odessa et Atlas, contrairement à la variété Aïda. L'adjonction des cytokinines dans le milieu de culture n'a pas été très significative sur la germination des microtubercules des variétés Odessa et Atlas contrairement à Aïda.

REFERENCES

- Diéssé S., Coullieré P., Hilbert J. L. & Vasseur J. (1995a). Dormance et germination des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produit *in vitro* : effets de la concentration en saccharose du milieu de tubérisation, de la durée de conservation à 4°C et d'un traitement avec de l'acide gibbérellique. *Acta Agr.* 142 (4) : 371-378.
- Diéssé S., Coullieré P., Hilbert J. L. & Vasseur J. (1995b). Protéines-changes in *Solanum tuberosum* during *in vitro* tubérisation of nodal cuttings. *Plant Physiol. Biochem.* 33 (3) : 305-310.
- Diéssé S., Coullieré P., Hilbert J. L. & Vasseur J. (1995c). Protéines-changes in *Solanum tuberosum* during *in vitro* tubérisation of nodal cuttings. *Plant Physiol. Biochem.* 33 (3) : 305-310.
- Ding A. (1993). Micropropagation et microtubérisation de deux variétés de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) adaptées aux conditions agroclimatiques du Sénégal. Mémoire de DEA. FST/BU/UCAD, 80 p.
- Feng E. (1987). The effect of hormones in potato *Solanum tuberosum* tubérisation. In: Plant hormones and their role in plant growth and development, Davion P. (ed.), Bionex, Martins Nighoff, 515-538.
- Lakshmi L. & Elbazou O. (1990). Induction de la microtubérisation chez *Solanum tuberosum* variété : Spunta. Cinq semaines de la culture *in vitro* Versailles (France), 24-25 Oct. Ed. INRA, Paris. Les colloques de l'INRA, n° 91.
- Lakshmi L. (1995). Application de la microtubérisation *in vitro* chez différentes variétés de pomme de terre. *Acta Hort.* 442 (4) : 349-357.
- Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays, with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497.
- Silfman R. D. S., Shabab D., Lavigne D., Nain A., Elhachimi D., Jouan B. & Doreux G. (2003). Etude de la microtubérisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Sahel. *Revue Agronomique (Mémorag)* 12 (1) : 7-14.
- Sy M. O. (1997). Micropropagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) par vitroplants ou *in vitro*. Rapport annuel d'activités scientifiques et techniques LACADISA/PRODER, Projet FNRAA N° 09/AP03 M10202, 54 p.
- Sy M. O. (1997). Micropropagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) par vitroplants ou *in vitro*. Rapport annuel d'activités scientifiques et techniques LACADISA/PRODER, Projet FNRAA N° 09/AP03 M10202, 54 p.

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié de l'appui financier du projet FNRAA N° 09/AP03 M10202 J

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE
SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT

DOCTORIALES 3^{ème} Edition

16-17 Janvier 2012 à l'UCAD 2

Programme Scientifique

Liste des Posters

Auteur	Titre
1. Touroumgaye GOALBAYE (UER 302)	L'amélioration des variétés locales de maïs (<i>Zea mays</i> L) augmentant la productivité des paysans au Tchad
2. Assa BALAYARA (UER 202)	Bio-écologie de <i>Bactrocera invadens</i> et mise sur pied de méthodes de lutte biologique: appareil reproducteur femelle et stade de maturité des ovaires.
3. Abdoul Aziz DIOUF (UER 302)	Dynamique herbagère des parcours naturels du Ferlo sénégalais : cas de la région de Matam.
4. Bassiaka OUATTARA (UER 302)	Diversité génétique et comportement germinatif de <i>Jatropha curcas</i> L. au Sénégal
5. Francis ABIOLA (UER 402)	Approche innovante de la gestion des boues de vidange en Afrique Subsaharienne par l'utilisation des filtres plantés
6. Mamani MAMMAN (UER 205)	Caractérisations phénotypique et zootechnique de la chèvre du Sahel au Niger
7. Mint Meiloud GHLANA (UER 403)	Etude de l'implication du variant T16198C du génome mitochondrial dans la susceptibilité au diabète type 2 chez des diabétiques mauritaniens
8. Amy BAKHOUM (UER 302)	Caractéristiques de la végétation ligneuse des parcours communautaires sahéliens de Tessekere (Ferlo, Nord-Sénégal)
9. Awa NDIAYE (UER 203)	Identification génétique et évaluation des flux de gènes entre différents écotypes de la bruche de l'arachide, <i>Caryedon serratus</i>
10. El Hadji Gorgui DIOUF (UER 403)	Etude de Substances Naturelles extraites de Plantes aromatiques et/ou médicinales rencontrées dans le département de Mbour
11. Halima A MAIGUIZO DIAGNE (UER 301)	Valorisation des déchets organiques par l'implémentation de Prototypes de biogaz en zones rurale et périurbaine au Sénégal
12. Néné THIOUNE (UER 106)	Détection des marqueurs pro-inflammatoires après pose de couronne unitaire fixée: Conception d'un nanocapteur et diagnostic infra-clinique
13. Abraham DIEME (UER 301)	Production de minitubercules de pomme de terre (<i>Solanum tuberosum</i> L.) : influence du calibre et du ratio sur le rendement des plants en serre
14. Amadou NDIAYE (UER 203)	Caractérisation génétique de <i>Toxoplasma gondii</i> et chimiosensibilité médicamenteuse
15. Abdou Karim SECK (UER 106)	Choix des dents en prothèse adjointe complète sur une population sénégalaise: Applicabilité des données anthropométriques
16. Bruno SENGHOR (UER 404)	Etude de la dynamique de transmission saisonnière de la schistosomiase à <i>Schistosoma haematobium</i> à Niakhar (Fatick, Sénégal)
17. Bocar Kalidou M'BAYE (UER 403)	

Conclusion Le protocole de fonctionnalisation de la surface d'or par des anticorps couplés au DSP répond plus à nos besoins. Le DSP a montré son efficacité par la formation d'une monocouche d'anticorps et ne modifie pas leur signature spectrale.

RETOMBÉES SCIENTIFIQUES :

- Nouvel outil diagnostique et pronostique au cabinet dentaire.
- Alternative idéale à la technique ELISA.

IMPACTS SOCIO-ÉCONOMIQUES :

- Réduction incidence des maladies parodontales.

MOTS-CLEFS : Nanotechnologies, Capteur, Interleukines, Prothèse fixée, Fluide gingival, Inflammation, ELISA.

P13

PRODUCTION DE MINITUBERCULES DE POMME DE TERRE (SOLANUM TUBEROSUM L.) : INFLUENCE DU CALIBRE ET DU RATIO SUR LE RENDEMENT DES PLANTS EN SERRE

Abraham DIEME, SY Mame Ourèye

UER 301 Biotechnologies végétales et Amélioration des Plantes

UMR/UR/ESP Amélioration des Plantes

Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale,

Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar - Fann, Sénégal

Mail : oureyes1@yahoo.fr

INTRODUCTION (+OBJECTIFS) : La filière de pomme de terre au Sénégal se heurte à de nombreuses difficultés liées à l'approvisionnement en semences de qualité. En effet, la micropropagation suivie d'une acclimatation des vitroplants est l'un des moyens efficaces pour la production de minitubercules utilisés comme semence et la conservation des variétés de pomme de terre cultivées après assainissement. Elle permet d'avoir une semence constituée de minitubercules de petite taille ayant une qualité phytosanitaire supérieure et une rentabilité concurrentielle. Dans cette optique, et pour s'affranchir des contraintes liées à l'approvisionnement et à la disponibilité de semences de qualité, la production de minitubercules de trois variétés (Aïda, Atlas et Odessa) de pomme de terre, adaptées aux conditions agroclimatiques a été entreprise. Cette production a été réalisée à partir de vitroplants issus du microbouturage in vitro. A partir de ces minitubercules récoltés en serre, un second essai de production de plants de deuxième génération a été conduit dans les mêmes conditions expérimentales. Nous avons évalué l'incidence du calibre et du ratio sur le rendement des plants en serre.

OBJECTIFS :

- Utiliser des vitroplants pour initier la production de semence de qualité sous forme de minitubercules.
- Tester l'influence du calibre des minitubercules sur le rendement en plant.
- Démontrer que les minitubercules peuvent servir de semence de qualité.

MÉTHODES : Les vitroplants, issus de ces microboutures, ont été acclimatés en serre pour l'obtention de minitubercules utilisés pour tester l'influence du calibre sur le rendement. On a utilisé 20 gaines par calibre et par variété. Dans chaque gaine on a semé un minitubercule et suivi le développement végétatif jusqu'à la récolte en fin de cycle.

RÉSULTATS ATTENDUS/OBTENUS : Le rendement des minitubercules dépend de la variété, du ratio mais aussi du calibre des minitubercules mis en terre. En effet, plus le ratio est élevé plus le rendement est élevé mais aussi plus le calibre des minitubercules semés est gros, plus le rendement est important.

CONCLUSION : Les résultats de cette étude montrent que le rendement des miniplantules dépend de la variété des pommes de terre mais aussi du ratio des plants et du calibre des minitubercules mis en terre. En effet, plus le calibre est gros, plus le rendement est élevé, mais aussi plus le nombre de minitubercules récoltés par plants est élevé plus le rendement est important.

RETOMBÉES SCIENTIFIQUES /IMPACTS SOCIO-ÉCONOMIQUES : L'étude des facteurs exogènes sur le rendement en serre des miniplantules issues des minitubercules relève d'une importance capitale pour les agriculteurs des pays en voie de développement qui ont des difficultés de semences dans la filière pomme de terre. En effet, la maîtrise de ces facteurs permettrait de rentabiliser cette filière en utilisant les minitubercules comme semences et augmenter les rendements.

MOTS-CLEFS : Solanum tuberosum, semences, minitubercules, miniplantules, ratio.

Communication affichée 2

Production de minitubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) : Influence du calibre et du ratio sur le rendement des plants en serre



DIEME^{1*} Abraham, SAGNA¹ Maurice, SY^{1} Mame Ourèye**

¹ Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar - Fann, Sénégal

Ecole doctorale Biotechnologies végétales et Amélioration des Plantes

* : diemecabraham@yahoo.fr

** : oureyesy1@yahoo.fr



INTRODUCTION

La filière de pomme de terre au Sénégal se heurte de nombreuses difficultés liées à l'approvisionnement en semences de qualité. En effet, la micropropagation suivie d'une acclimatation des vitroplants est un des moyens efficaces pour la production de minitubercules utilisés comme semence et la conservation des variétés de pomme de terre cultivées après assainissement. Elle permet d'avoir une semence constituée de minitubercules de petite taille ayant une qualité phytosanitaire supérieure et une rentabilité concurrentielle. Dans cette optique, et pour s'affranchir des contraintes liées à l'approvisionnement et à la disponibilité de semences de qualité, la production de minitubercules de trois variétés (Aïda, Atlas et Odessa) de pomme de terre, adaptées aux conditions agroclimatiques a été entreprise. Cette production a été réalisée à partir de vitroplants issus du microbouturage *in vitro*. A partir de ces minitubercules récoltés en serre, un second essai de production de plants de deuxième génération a été conduit dans les mêmes conditions expérimentales. Nous avons évalué l'incidence du calibre et du ratio sur le rendement des plants en serre.

OBJECTIFS

- Utiliser des vitroplants pour initier la production de semence de qualité sous forme de minitubercules.
- Tester l'influence du calibre des minitubercules sur le rendement en plant.
- Démontrer que les minitubercules peuvent servir de semence de qualité.

MATERIELS & METHODES

> Matériel végétal

Les vitroplants de 3 à 6 entrenoeuds (Fig. 1) obtenus du microbouturage *in vitro* ont servi à la micropropagation.



Figure 1 : Aspects des vitroplants des 3 variétés de pomme de terre

> Composition des milieux de culture

Les microboutures comportant chacune un noeud à un bourgeon axillaire sont ensemencées aseptiquement sur milieu MS en présence de 30g de saccharose. Les milieux de culture à pH 5,9 ont été solidifiés avec l'agar à 8 g.L⁻¹ et autoclavés à 110°C ; 20mn. Après ensemencement, les cultures ont été incubées dans une chambre de culture thermostatée à 25°C ± 1°C sous une photopériode de 16 heures de jour et 8 heures d'obscurité.

> Dispositif expérimental

Les vitroplants (200), issus de la micropropagation, ont été acclimatés en serre pour l'obtention de minitubercules (Fig 2; 3 & 4).



Figure 3 : Aspects des miniplantules après acclimatation et tubérisation



Figure 4: Aspect des minitubercules récoltés



Figure 5: Plants issus des minitubercules

Les minitubercules récoltés et répartis en différents calibres ont été utilisés pour le test du rendement des plants issus de ces minitubercules, en fonction du calibre mais aussi du ratio. On a utilisé 20 gaines (1volume de terre/ 2volume de sable) par calibre et par variété. Dans chaque gaine on a semé un minitubercule et suivi le développement végétatif (figure 5) jusqu'à la récolte en fin de cycle. Pour Aïda et Atlas, le cycle était de 75 à 80 jours et Odessa de 65 jours.

RESULTATS

A- Influence du ratio sur le rendement

La variété Odessa a un rendement beaucoup plus élevé que celui des autres variétés avec 192 minitubercules récoltés. Ce résultat peut s'expliquer par le ratio de minitubercules récoltés pour un minitubercule planté car le ratio de Odessa (3,2) est plus élevé que celui des deux autres variétés Atlas et Aïda avec respectivement 2,62 et 2,23. (Tableau 1)

Tableau 1: Nombre de minitubercules récoltés par variété en fonction du ratio

Calibres(mm)	15 – 20	20 - 32	32 - 47	Moyenne des ratios/variété	Nbre Total de minitubercules
Aïda	1,45	2,25	3	2,23	134
Atlas	2	2,4	3,45	2,62	157
Odessa	2,6	3	4	3,2	192

B- Influence du calibre sur le rendement

Après la récolte nous avons compté les minitubercules. Ainsi nous avons constaté que ce paramètre dépend de la variété et du calibre. En effet, plus le calibre est gros, plus le rendement est élevé (figure 6). Pour toutes variétés, les plants issus des minitubercules à calibre 32 – 47 ont un rendement plus élevé comparativement aux deux autres calibres. Toutefois parmi les variétés testées, la variété Odessa offre un nombre de minitubercules (80) plus élevé que les deux autres variétés Atlas et Aïda avec respectivement 69 et 60 minitubercules.

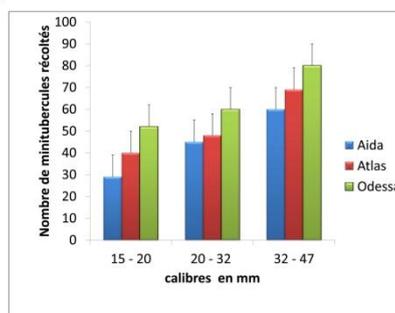


Figure 6: Nombre de minitubercules récoltés par calibre et par variété

CONCLUSION

L'étude des facteurs exogènes sur le rendement en serre des miniplantules issues des minitubercules relève d'une importance capitale pour les agriculteurs des pays en voie de développement qui ont des difficultés à s'approvisionner en semences dans la filière pomme de terre. En effet, la maîtrise de ces facteurs permettrait de rentabiliser cette filière en utilisant les minitubercules comme semences et augmenter les rendements. Les résultats de cette étude montrent que le rendement des miniplantules dépend de la variété des pommes de terre mais aussi du ratio des plants et du calibre des minitubercules mis à terre. En effet, plus le calibre est gros, plus le rendement est élevé. On constate également que plus le nombre de minitubercules récoltés par plants est élevé plus le rendement est important.

REFERENCES

- Desiré S., Couillerot J. P., Hilbert J. L. & Vasseur J. (1995a). Dormance et germination des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produit *in vitro* : effets de la concentration en saccharose du milieu de tubérisation, de la durée de conservation à 4°C et d'un traitement avec de l'acide gibbérélique. *Acta Bot.* **142** (4) : 371-378.
- Desiré S., Couillerot J. P., Hilbert J. L. & Vasseur J. (1995b). Protein changes in *Solanum tuberosum* during *in vitro* tubérisation of nodal cuttings. *Plant Physiol. Biochem.* **33** (3) : 303-310.
- Dieng A. (1993). Micropropagation et microtubérisation de deux variétés de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) adaptées aux conditions agroclimatiques du Sénégal. *Mémoire de DEA*. FST/BVUCAD, 84 p.
- Lakhoul L. & Elouze O. (1990). Induction de la microtubérisation chez *Solanum tuberosum* variété : Spunta. Cinquantenaire de la culture *in vitro* Versailles (France), 24-25 Oct. Ed. INRA, Paris. *Les colloques de l'INRA*, n°51.
- Lé C. L. (1995). Applications de la microtubérisation *in vitro* chez différentes variétés de pomme de terre. *Acta Bot. Gallica* **142** (4) : 389.
- Marashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays, with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* **15** : 473-497.
- Sidikiou R. D. S., Sihachakr D., Lavergne D., Nato A., Ellissèche D., Jouan B. & Ducreux G. (2003). Etude de la microtubérisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Sahel. *Revue Agronomique (Montroge)* **12** (1) : 7-14.
- Sy M. O. (2004). Production et multiplication de semences de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) par vitrométhodes au Sénégal. Rapport annuel d'activités scientifiques et techniques UCAD/ISRA/PRODER. Projet FNRAA N° 09/AP03 M10202 J. 54 p.
- Sy M. O. (1997). Micropropagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) transféré biotechnologique au Sénégal. *Ed. Edition des journées scientifiques sur l'économie sénégalaise*. CREA-FASEG-UCAD, Dakar, 13-14 Juin 1997. 9 p.

Résumé

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est un légume qui occupe le cinquième rang mondial de l'alimentation humaine. Son importance est grandissante dans l'alimentation sénégalaise. Cependant, la production de pomme de terre au Sénégal ne satisfait pas les besoins du marché, ce qui maintient une dépendance vis-à-vis de l'extérieur pour l'approvisionnement en semences de qualité. De plus, ces semences importées ne présentent pas souvent les qualités phytosanitaires requises. La production *in vitro* de microtubercules utilisés comme semence, se présente comme étant l'un des moyens les plus efficaces pour la propagation de matériel de base. Dans cette optique, et pour s'affranchir des contraintes liées à l'approvisionnement et à la disponibilité de semences de pomme de terre ayant un grand pouvoir germinatif, l'influence de facteurs exogènes, du calibre et de l'âge physiologique sur la germination *in vitro* de microtubercules de trois variétés de pomme de terre, a été étudiée. L'incidence du calibre des microtubercules sur le rendement des plants en conditions contrôlées a également été examinée. Les microtubercules, obtenus sur des miniboutures cultivées *in vitro* dans différents types de milieux MS/2 enrichis en saccharose et complétés ou non en cytokinines, ont été ensemencés stérilement dans le milieu MS(0) et incubés à l'obscurité à différents niveaux thermiques (25, 27 et 30°C). Après incubation, le meilleur taux de germination (100%) est obtenu à 25°C avec les microtubercules de la variété Atlas initialement formés dans le milieu [Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹ de saccharose]. Pour les microtubercules des variétés Aïda et Odessa issus du milieu [Kin 2,5 mg.L⁻¹ + BAP 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹ de saccharose], les taux de germination optimaux sont également obtenus à 25°C. Ils sont équivalents respectivement à 100% et 70%. La substitution de la BAP par la coumarine dans le milieu de tubérisation a augmenté significativement le taux de germination à 27°C. Celui-ci a augmenté de 80% à 90%. La température de 25°C a permis une meilleure aptitude à la germination des microtubercules pour toutes les variétés. Quelle que soit la variété considérée, les microtubercules de calibre supérieur à 4 mm sont plus aptes à germer que ceux à calibre inférieur à 4 mm. L'âge physiologique influence également la germination des microtubercules. En effet, la longueur moyenne des germes est plus importante aux stades « germes multiples » et « germes ramifiés » qu'au stade « monogerme » pour toutes les variétés à 25°C. L'effet du calibre supérieur à 4 mm des microtubercules semés en conditions contrôlées sur le rendement des plants se traduit par une augmentation du ratio, du développement végétatif des plants, mais également du nombre et du calibre des microtubercules récoltés.

INFLUENCE DE FACTEURS EXOGENES, DU CALIBRE ET DE L'AGE PHYSIOLOGIQUE SUR LA GERMINATION DE MICROTUBERCULES DE POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum* L.) ET SUR LE RENDEMENT DES PLANTS EN CONDITIONS CONTROLEES.

Summary

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is a vegetable that ranks fifth in the world for human alimentation. Its importance is growing in the Senegalese food. However, the production of potatoes in Senegal does not satisfy market needs, what maintains dependence towards the outside for the supply of quality seeds. In addition, these imported seeds often do not match the phytosanitary requirements. *In vitro* production of microtubers used as seed, appears as being one of the most effective means for the propagation of basic plant material. Accordingly, and to overcome the constraints of supply and the availability of seed potatoes with a large germination capacity, the influence of exogenous factors and physiological age on the *in vitro* germination of microtubers from three potato varieties was studied. The impact of the size on microtubers performance of plants under controlled conditions was also examined. Microtubers obtained on *in vitro* cultivated cuttings introduced in different types of medium MS/2 and enriched with sucrose and supplemented or not in cytokinins, were seeded in sterile MS(0) medium and incubated in darkness at various temperature levels (25, 27 and 30°C). After incubation, the best germination rate (100%) was obtained at 25°C with microtubers of Atlas variety initially formed in the medium [Kin 1 mg.L⁻¹ + BAP + 1 mg.L⁻¹ + 80 g.L⁻¹ sucrose]. For microtubers of Aida and Odessa varieties from the medium [Kin 2.5 mg.L⁻¹ + BAP + 1 mg.L⁻¹ + 100 g.L⁻¹ sucrose], optimal germination rates were also obtained at 25°C. They were equivalent to 100% and 70%, respectively. The substitution of BAP by coumarin in the tuberization medium beneficially raised the germination rate at 27°C. This has increased from 80% to 90%. Temperature of 25°C allowed a better ability to germination of microtubers for all varieties. Whatever the considered variety, microtubers with caliber over 4 mm were more likely to germinate than those with caliber under 4 mm. Physiological age influences microtuber germination. In fact, the average length of sprouts was more important at the "multiple sprout" and "branched sprout" stages than at the "monosprout" stage for all varieties, at 25°C. The effect of the caliber over 4 mm of the seeded microtubers on seedlings performance in controlled conditions, resulted in an increase in the vegetative growth ratio of plants, but also in the number and caliber of harvested microtubers.

Discipline : Biologie, physiologie et pathologies végétales

Mots clés : *Solanum tuberosum*, microtubercules, germination *in vitro*, saccharose, cytokinines, coumarine, température, calibre, âge physiologique, microtubercules.