

——*—*—*—*—*—*—*—*—*—*—*—*



*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*

Mise au point d'une méthode de production de semences de patate douce (*Ipomea batatas* Lam.) en conditions *in* et *ex vitro*

Mme Aïchatou TOURE NIANG

Président :	M. Aboubacry KANE	Maitre de conférence UCAD
Membres du jury :	M. Djibril SANE	Professeur titulaire UCAD
	M. Bassirou DIALLO	Chargé de recherches ISRA
	Mme Hassna Founoune MBOUP	Chargée de recherches ISRA
	M. Aliou NDIAYE	Maître assistant FST/UCAD

Directeur de mémoire : Pr Djibril SANE ; Co-encadreur : Dr Bassirou DIALLO

Dédicaces

A mon père Sellé et à ma mère Seynabou Diéne qui ont consenti tant d'efforts et de sacrifices pour ma réussite et qui n'ont cessé de m'encourager, de me conseiller et de me combler de leur amour, soutien et tendresse ainsi que de leurs prières.

A mon cher époux Aldiouma Niang qui n'a cessé de m'épauler, de me soutenir et de me comprendre et à mon bébé Hamady Niang qui a été ma source d'inspiration et de motivation durant tout ce temps.

A mes très chers frères Mohamane et Ismaila ainsi que leurs épouses Adja et Astou et ma sœur adorée Mame Ngoné Touré pour leur soutien et prières.

A ma belle-mère Diewo Gaye pour son aide et sa compréhension.

A toute la famille Touré à Dakar qui m'a accueillie et soutenu durant toute ma formation.

Aux familles Ndong à Dakar et Diéne à Thiès et à ma belle-famille Niang à Niary Taly.

A mes amis proches et tous ceux qui ont souhaité ma réussite.

Remerciements

Je remercie Allah (SWT) le tout puissant de m'avoir accordée la vie, la santé, la force et la volonté d'effectuer ce travail.

Au terme de ce travail, je voudrais exprimer mes remerciements et ma profonde reconnaissance à :

Monsieur Aboubacry KANE, Maître de conférence à l'Université Cheikh Anta Diop pour sa disponibilité, son encadrement et ses conseils avec respect et reconnaissance. Qu'il soit aussi vivement remercié pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury.

Monsieur Djibril SANE, Professeur titulaire à l'Université Cheikh Anta Diop qui a beaucoup contribué à la réalisation de ce document. Ses compétences scientifiques, ses qualités humaines et sa disponibilité ont été très précieuses dans l'accomplissement de ce mémoire. Il m'est aussi agréable de lui témoigner ma grande gratitude pour avoir accepté de juger ce travail et faire partie de ce jury.

Monsieur Bassirou DIALLO, Chargé de recherches à l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, responsable du laboratoire de culture *in vitro* qui est également un oncle et un conseiller. Il a été très présent durant tout ce séjour et m'a voué une aide, un encadrement, une patience et une disponibilité inégalables. Il m'est aussi agréable de lui témoigner ma grande gratitude pour avoir accepté de juger ce travail et faire partie de ce jury.

Madame Hassna Founoune MBOUP, Chargé de recherches à l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, pour son soutien, sa compréhension, son encadrement, ses précieux conseils et sa patience. Je suis aussi reconnaissant pour le temps qu'elle a consacré à la correction de ce manuscrit. Qu'elle soit vivement remerciée d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Monsieur M. Aliou NDIAYE, Maître assistant à l'Université Cheikh Anta Diop pour ses conseils et sa disponibilité. Il m'est aussi agréable de lui témoigner ma grande gratitude pour avoir accepté de juger ce travail et faire partie de ce jury.

Madame Ndeye Yacine Badiane Ndour et Mme Laure Tall Diouf pour m'avoir accueilli durant mon stage au sein du Laboratoire National de Recherches sur les Productions Végétales (LNRPV) de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA).

A tes chercheurs du LNRPV en particulier Dr Léye, Dr Halima et Dr Kane mais également les techniciens et ouvriers particulièrement Mrs Macodou Diouf, Moussa Touré, Moutapha Diop, Mme Aissatou Diouf.

A l'ensemble du personnel administratif du LNRPV particulièrement à Mme Mame Boly Mané, Mme Sow, Mme Mbaye, Mr Malick Thomas et Mr Petit Mbaye mais aussi aux doctorants et tous les collègues stagiaires du LNRPV particulièrement Sally Diatta, Khadija Sadio, Adama Ndiaye, Binta Ndao et Banna.

De vifs remerciements à tous mes collègues et amis du master BIOVEM.

Liste des sigles et abréviations

FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database

ISRA : Institut Sénégalais de Recherches Agricoles

LNRPV : Laboratoire National de Recherches sur les Productions Végétales

URCI : Unité de recherche en culture *in vitro*

ITA : Institut de Technologie Alimentaire

SAED : Société Nationale d'Aménagement et d'Exploitation des terres

CEDEAO : Communauté économique des États de l'Afrique de l'Ouest

CIP: Centre international de pomme de terre

pH : Potentiel hydrogène

BAP : 6-benzylaminopurine

ANA : Acide naphtalèneacétique

GA3 : Acide gibbérellique

NH₄⁺: ion ammonium

K⁺: ion potassium

Mg: magnésium

Table des matières

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Liste des sigles et abréviations	iii
Table des matières	iv
Listes des figures	vi
Liste des tableaux	viii
Liste des annexes	ix
Résumé	x
Abstract	xi
INTRODUCTION	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Présentation de la patate douce	3
1.1 Origine	3
1.2 Systématique	3
1.3 Types variétaux	5
1.4 Ecologie	5
1.5 Culture et rendement	6
1.6 Ennemis de la culture	6
1.6.1 Maladies	6
1.6.2 Ravageurs	7
1.7 Intérêt et importance économique	7
1.7.1 Marché et économie	7
1.7.2 Aspect nutritionnel et diététique	7
1.7.3 Utilisations	9
1.8 Système semencier de la patate douce	9
1.8.1 Différents niveaux de multiplication de matériel de plantation	9
1.8.2 Règlementation sur les semences de patate douce	10
2. Généralités sur la culture <i>in vitro</i>	10
2.1 Conditions physiques en culture <i>in vitro</i>	10
2.1.1 Lumière et photopériode	10
2.1.2 Température	11
2.1.3 Hygrométrie	11
2.1.4 Les régulateurs de croissance	11
2.2 Les techniques de culture <i>in vitro</i>	11
2.2.1 Embryogenèse somatique	11
2.2.2 Culture de méristèmes	12
2.2.3 Micropropagation	12
MATERIEL ET METHODES	
1. Matériel végétal	13
2. Méthodologie	13
2.1 Désinfection des explants	13
2.2 Préparation des milieux	14

2.3 Culture de méristèmes	14
2.3.1 Substrat et condition de culture	14
2.3.2 Initiation des méristèmes.....	15
2.4 Micropropagation	15
2.5 Acclimatation en mini serre	15
2.5.1 Préparation des mini serres	15
2.5.2 Acclimatation des vitroplants.....	16
2.6 Production de boutures en mini serre	16
2.6.1 Mise en place des traitements.....	16
2.6.2 Paramètres étudiés	19
3. Analyse statistique des données	19
RESULTATS	
1. Désinfection des explants	20
2. Assainissement par culture de méristèmes	21
3. Multiplication <i>in vitro</i> en présence de kinétine.....	23
3.1 Effet de la kinétine sur le développement caudal et foliaire et racinaire	23
3.2 Effet de la kinétine sur la croissance et le développement des variétés	25
4. Acclimatation en mini serre	30
5. Repiquage en mini serre.....	31
5.1 Effet du type de bouture sur le développement des plants	31
5.2 Effet du type de substrat sur la croissance des plants	33
5.2.1 Comparaison des paramètres de croissance en fonction du type de substrat.....	33
5.2.2 Comparaison des paramètres de croissance en fonction du type de bouture cultivé sur les différents substrats testés	34
DISCUSSIONS	
1. L'hypochlorite de sodium permet de désinfecter des explants de patate douce prélevés sur le terrain	37
2. L'acide gibbérellique associé à la kinétine stimule la croissance et le développement des méristèmes de patate douce	37
3. La kinétine optimise les capacités des explants de patate douce à développer des organes en conditions <i>in vitro</i>	38
3.1 La kinétine favorise l'élongation et la phylogénèse des explants de patate douce	38
3.2 La kinétine favorise le développement racinaire des explants de patate douce	39
3.3 La kinétine présente un effet différentiel sur la croissance et le développement chez les différents génotypes de patate douce.....	39
4. L'utilisation des mini serres permet d'optimiser l'acclimatation des vitroplants de patate douce.....	40
5. Le type de substrat et la taille des boutures influencent la croissance et le développement des plants de patate douce pendant la phase de sevrage.....	41
CONCLUSION	42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	43

Liste des figures

Figure 1: Composantes d'une plante de patate douce	4
Figure 2: Composition nutritionnelle de la patate douce	8
Figure 3: Désinfection des explants : a) boutures issues de plants élevés en serre, b) Explants en désinfection à différents temps de trempage	14
Figure 4: Préparation des mini serres : a) mini serre couvert de toile, b) mini serre remplie de terreau stérile.....	16
Figure 5: Stérilisation du sol.....	18
Figure 6: Matériel végétal : a) plants récoltés et effeuillés, b) coupe des tiges en boutures, c) boutures à 1 nœud, d) boutures à 2 nœuds.....	18
Figure 7: Conditions de repiquage des boutures de seconde génération a) mini serre contenant T100 et S100; b) mini serre contenant le substrat TS25; c) mini serre contenant le substrat TS75; d) mini serre contenant le substrat TS50	20
Figure 8: Fragments de tiges après 30 mn de trempage dans l'hypochlorite de sodium à 4° chlorimétrique	20
Figure 9: Taux de décontamination, de débourrement et de nécrose des explants en fonction du temps de trempage dans l'hypochlorite de sodium à 4° chlorimétrique après 60 jours	21
Figure 10: Culture de méristèmes sur papier filtre placé sur milieu de culture MS liquide contenant différentes combinaisons d'hormones (GA3 et kinétine) : méristèmes sur milieu E à T = 0 (a) ; méristèmes sur milieu E à T = 30 jours (b) ; méristèmes sur milieu E à T = 60 jours (c) ; méristèmes sur milieu C à T = 30 jours (d)	23
Figure 11: Effet des différentes concentrations de kinétine sur la croissance en longueur (en cm) des vitroplants chez les variétés Boly (a) Dina (b) et Beau regard (c) sur le milieu de base MS	26
Figure 12: Effet des différentes concentrations de kinétine sur le nombre de bourgeons nodaux néoformés chez les variétés Boly (a), Dina (b) et Beau regard (c) sur le milieu de base MS	27
Figure 13: Effet des différentes concentrations de kinétine sur le développement racinaire chez les variétés Boly (a), Dina (b) et Beau regard (c) sur le milieu de base MS	28
Figure 14: Vitroplants de la variété Boly cultivés en présence de 2 mg/l de kinétine sur milieu de base MS après 15 jours (a) et 30 (b) jours de culture	29
Figure 15: Taux de survie des vitroplants en phase d'acclimatation dans un mini serre rempli de terreau stérile après 8 semaines	30

Figure 16: Développement des vitroplants en phase d'acclimatation sur du terreau : a) vitroplants à T= 0; b) plants à T=60 jours	30
Figure 17: Croissance en longueur (a) et nombre de feuilles (b) en fonction du type de boutures (1 et 2 nœuds) sur le substrat TS25	33
Figure 18: Croissance en longueur (a) et nombre de feuilles (b) des plants au cours du temps suivant le type de substrat	20

Liste des tableaux

Tableau 1: Teneur en nutriments de la patate douce	8
Tableau 2: Concentrations des phytohormones ajoutées aux milieux liquides de base MS utilisés pour la culture de méristèmes	15
Tableau 3 : Récapitulatif des traitements.....	19
Tableau 4: Taux de réactivité, de callogenèse, de régénération et de pertes des méristèmes en fonction des milieux de culture après 60 jours de culture	22
Tableau 5: Effet de différentes concentrations de kinétine sur l'expression morphogénétiques des explants de patate douce des variétés Boly, Dina et Beau regard.....	24
Tableau 6: Développement des plants en fonction du type bouture (1 ou 2 nœuds) mis en culture sous mini serre à 60 jours.....	31
Tableau 7: Croissance et développement des boutures à 1 et 2 nœuds en fonction de la nature du substrat après 60 jours de culture.	32

Liste des annexes

Annexe 1: Composition minérale du milieu de culture de Murashige et Skoog (1962).....	i
Annexe 2 : Composition du terreau	ii
Annexe 3 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les différentes concentrations de kinetine (Fisher (LSD)) sur les 3 variétés Boly, Dina et Beau regard.....	iii
Annexe 4 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour nombre de nœuds (Fisher (LSD)) sur l'ensemble des substrats à 30 jours :.....	v
Annexe 5 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Substrat*nombre de nœuds Newman-Keuls (SNK)) à 60 jours:	v
Annexe 6 : Poster.....	vi

Résumé

La patate douce (*Ipomea batatas* Lam.) constitue la septième plus importante culture dans le monde et la cinquième dans les pays en voie de développement après le riz, le blé, le maïs et le manioc. Au Sénégal comme dans beaucoup de pays africains, l'expansion de sa culture est confrontée à un réel problème de disponibilité de semences de qualité en quantité suffisante. Cette présente étude a pour objectif de contribuer à l'extension de la culture à travers la mise au point d'une stratégie de production de semences saines, accessibles et rentables en conditions *in* et *ex vitro*. Pour ce faire, la technique de culture de méristèmes a été utilisée pour régénérer des vitroplants indemnes de toutes maladies. Les méristèmes apicaux ont été prélevés et cultivés sur un milieu de Murashige et Skoog (MS) liquide additionné de Kinétine (0 et 0,5mg/l) et de GA3 (0 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 et 3 mg/l). En vue d'une multiplication en masse des vitroplants régénérés, les capacités morphogénétiques des variétés Boly, Dina et Beau regard ont été évaluées *in vitro* sur milieux MS supplémentés de kinétine à différentes concentrations (0 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 et 3 mg/l). La variété Boly qui est apparue comme la plus performante en conditions *in vitro* a été acclimatée à l'abri de toute contamination sur substrat stérile dans des mini serres et utilisée pour un test de multiplication par bouturage. Pour ce faire, des boutures comportant 1 ou 2 nœuds ont été cultivées sur différents mélanges de terreau et de sable stériles dans les proportions v/v: 100/0 ; 75/25, 50/50, 25/75 et 0/100.

Les résultats ont révélé que la combinaison hormonale kinétine (0,5mg/l) et GA3 (3mg/l) a permis d'optimiser la réactivité des méristèmes (57%). Concernant la micropropagation nos résultats ont montré que la kinétine stimule la croissance des vitroplants des trois variétés utilisées par rapport aux témoins. Les longueurs des vitroplants les plus importantes chez les variétés Boly (4,5 cm), Dina (2,7 cm) et Beau regard (3,9 cm) ont été respectivement obtenues en présence de kinétine à 2 ; 1 et 3mg/l. L'acclimatation en mini serre a conduit à des taux de réussite de 82% sur le substrat constitué de 100% de terreau. Toutefois, le mélange terreau/sable (à 75% et 25%) permet d'obtenir en mini serre un meilleur développement des boutures de seconde génération. Par ailleurs, les résultats ont montré que les boutures à 1 nœud régénèrent des plants de même taille (24cm) et comportant les mêmes nombres de nœuds (9 nœuds) que ceux issus de boutures à 2 nœud après 2 mois de cultures. La méthode proposée dans cette étude permet de produire rapidement en masse des semences de patate douce indemnes de toute maladie. En effet, avec cette méthode de production des boutures en mini serre, il est possible de réaliser des taux de multiplication 250 fois supérieurs à ceux obtenus au bout d'un an avec la méthode classique de production de semences de patate douce.

Mots clés : Patate douce (*Ipomea batatas* Lam.), culture de méristèmes, microbouturage, vitroplants, bouturage *ex vitro*

Abstract

Sweet potato (*Ipomea Batatas* Lam.) is the seventh largest crop in the world and the fifth in the developing countries after rice, wheat, maize and cassava. In Senegal, as in many African countries, the expansion of its culture is confronted with a real problem of availability seeds of quality in sufficient quantity. The objective of this study is to contribute to the extension of culture through the development of an accessible, and profitable seed production technology under in and *ex vitro* conditions. To do this, the meristem culture technique was used to regenerate vitroplants free from any disease.

Apical meristems were collected and cultured on liquid Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with kinetin (0 and 0.5 mg / l) and GA3 (0.1, 1.5, 2.5 and 3 mg / l). For the mass propagation of regenerated vitroplants, the morphogenetic capacities of the "Boly", "Dina" and Beau regard varieties were evaluated *in vitro* on MS medium supplemented with kinetin at different concentrations (0; 1; 1,5; 2; 2; 5 and 3 mg / l). The Boly variety, which appeared to be the most efficient under *in vitro* conditions, was acclimatized without any contamination on sterile substrate in mini greenhouses and used for a propagation test by cuttings. To do this, cuttings with 1 or 2 nodes were grown on different mixtures of soil and load v/v: 100/0, 75/25, 50/50, 25/75, 0/100.

The results revealed that the hormonal combination of kinetin and GA3 respectively at concentration 0.5mg/l and 3mg/l was the most stimulating of meristem regeneration. Micropropagation in the presence of kinetin detected a stimulatory effect of it on the growth of vitroplants of the three varieties used compared to controls. The length growths of vitroplants the most important in the Boly (4.5 cm), Dina (2.7 cm) and Beau regard (3.9 cm) varieties were respectively obtained in the presence of kinetin at 2, 1 and 3mg / l.

Acclimatization in the mini greenhouse led to 82% success rates on the 100% soil substrate. In contrast, the 75% load and 25% soil (TS25) substrate proved to be the most suitable for the development and multiplication of cuttings compared to other substrates. In addition, the results showed that 1-node cuttings regenerate plants of the same size (24 cm) and with the same numbers of nodes (9 nodes) as those from 2-node cuttings after 2 months of culture. The method proposed in this study makes it possible to rapidly produce sweet potato seeds free from any disease. Indeed, with this method of producing cuttings in mini greenhouse, it is possible to achieve multiplication rates 250 times higher than those obtained after one year with the conventional method of producing sweet potato seed.

Key words: Sweet potato (*Ipomea batatas* Lam.), meristem culture, microbutting, vitroplants, *ex-vitro* cuttings

INTRODUCTION

La patate douce est une culture économiquement importante dans les régions tropicales, subtropicales et chaudes (Mervat *et al.*, 2009). Elle est la septième plus importante culture dans le monde et la cinquième dans les pays en voie de développement après le riz, le blé, le maïs et le manioc (Shimada et Otani, 2007). Elle est cultivée dans plus de 110 pays sur une superficie estimée à 8,5 millions d'hectares (Placide *et al.*, 2013). La production mondiale annuelle de patate douce est estimée à 106,5 millions de tonnes dont 80 % provient de la Chine et environ 15% d'Afrique orientale et centrale (FAOSTAT, 2010). Les rendements varient de 5,4 t/ha (Afrique) à 19,5 t/ha (Asie).

En Afrique, la Tanzanie est le premier pays producteur (3,47 millions de tonnes), suivent le Nigéria (3,45 millions de tonnes), l'Ouganda (2,59 millions de tonnes), le Kenya (1,15 million), le Madagascar (1.13 million) et le Rwanda (1,08 million) (FAOSTAT, 2015). Les superficies emblavées en Afrique sont de 3,74 millions d'hectares (FAOSTAT, 2017). Au Sénégal, la production annuelle en 2017 est estimée en moyenne à 40 983 T sur environ 4 000 ha des superficies mises en valeur dans la Vallée du Fleuve, (FAOSTAT, 2017)

Cependant, malgré la facilité et les exigences minimales de la culture, l'expansion de la patate douce à travers le monde est menacée par de nombreux stress biotiques et abiotiques, notamment les dommages sévères causés par les maladies (virales et bactériennes) et les parasites (Shimada et Otani, 2007). En effet, les maladies virales restent de loin la menace la plus importante pour l'expansion de la culture de la patate douce à travers le monde. Elles occasionnent annuellement des pertes de rendement pouvant varier entre 50 et 98 % (Gibson *et al.*, 1998 ; Loebenstein *et al.*, 2003). Elles sont d'ailleurs considérées comme la principale cause d'extinction de variétés de patate douce (Salazar et Fuentes, 2001) et de l'indisponibilité de semences de qualité.

Au Sénégal, la culture de la patate douce, à l'instar de plusieurs pays africains (Glato *et al.*, 2013), est confrontée aux maladies et par voie de conséquence à la disponibilité de semences de qualité en quantité suffisante. En effet, comme chez toutes les espèces multipliées végétativement, la propagation de la patate douce se fait essentiellement soit à partir de tubercules, soit à partir de fragments de tiges, ce qui entraîne une accumulation de nombreuses maladies d'une génération à une autre. Cette pratique est d'autant plus désastreuse que le matériel de plantation échangé d'un champ à un autre n'est pas toujours soumis à un contrôle de qualité (Shimada et Otani, 2007 ; Starthurs, 2013).

Néanmoins, ces contraintes sanitaires affectant les plantes et la qualité des semences peuvent être résolues par l'application de techniques de culture *in vitro* tel que l'assainissement par culture de méristème et la micropropagation en masse de plants sains. En effet, en absence de thermothérapie pour traiter ces maladies, la culture de méristèmes *in vitro* reste la seule technique efficace pour éliminer les virus de la patate douce (Feng *et al.*, 2000). L'utilisation de plants indemnes de virus peut restaurer, durant 3 à 4 ans, les excellents rendements d'origine de la variété et augmenter sa résistance à d'autres pathogènes (Feng *et al.*, 2000).

Les techniques de culture *in vitro* appliquées à la production de matériel de plantation sain de patate douce, constituent ainsi une alternative certaine pour résoudre les problèmes d'approvisionnement en quantité et en qualité de boutures auxquels les producteurs sénégalais sont confrontés.

L'objectif de ce travail est de contribuer à la mise en place d'un système d'approvisionnement durable en matériel de plantation en qualité et quantité suffisante, par la mise au point de protocoles simples de multiplication de semences issues de la culture *in vitro*, que les producteurs pourront utiliser pour l'obtention rapide de boutures saines.

Pour ce faire, nous avons cherché à :

- assainir le matériel végétal par la culture de méristèmes ;
- évaluer les capacités morphogénétiques de trois variétés de patate douce en présence de concentrations croissantes de kinétine ;
- mettre au point une méthode efficace d'acclimatation de vitroplants de patate douce en mini serre ;
- développer *ex vitro* une méthode accessible de production de semences de patate douce à partir de boutures de seconde génération issues de vitroplants.

Dans la première partie de ce travail, nous avons abordé à travers une analyse synthétique de la bibliographie, quelques généralités sur la patate douce et sur la culture *in vitro*. Dans la seconde partie, la démarche méthodologique adoptée au cours de nos expérimentations a été présentée. La troisième partie du travail est consacrée à la présentation et à la discussion des résultats. Enfin, nous avons conclu et dégagé des perspectives de recherche.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Présentation de la patate douce

1.1. Origine

La patate douce (*Ipomea batatas* Lam.) est originaire d'Amérique tropicale, notamment d'Amérique centrale et méridionale (Huamàn *et al.*, 1999). Elle serait introduite en Afrique, aux Indes orientales et Philippines aux XVI^e et XVII^e siècle par les espagnols et les portugais (Janssens, 2001). *Ipomea batatas* n'est pas connue à l'état sauvage (Huamàn *et al.*, 1999). Parmi les espèces du genre *Ipomea* série batatas, treize sont considérées comme voisines de la patate douce mais l'ancêtre sauvage de cette plante n'est pas encore identifié (Srisuwan *et al.*, 2006). Nombreuses sont les hypothèses qui ont été émises dans le but d'expliquer l'origine de la patate douce (Srisuwan *et al.*, 2006). Les études moléculaires menées sur la patate douce et les espèces diploïdes voisines par l'utilisation de marqueurs génétiques RAPD (Jarret et Austin, 1994), d'ISSR et des variations dans des sites de restriction de régions non codantes d'ADN chloroplastiques (Haung et Sun, 2000) montrent qu'*Ipomea trifida* est l'une des espèces la plus étroitement liée à la patate douce. De même, la construction de caryotypes cytogénétiques moléculaires basés sur la distribution de loci d'ARNr 18s et 5s et les régions riches en G et C ont abouti à la même conclusion (Srisuwan *et al.*, 2006).

Aujourd'hui, la patate douce est une culture que l'on rencontre partout sous les tropiques. Il s'agit d'une plante pérenne qui est, cependant, traitée par les paysans comme une plante annuelle.

1.2. Systématique

La patate douce (*Ipomea batatas* Lam.) est une dicotylédone gamopétale appartenant à l'ordre des Solanales et à la famille des convolvulacées (Cavalcante-Alves, 1996).

La patate douce est une plante herbacée rampante. Les tiges, plus ou moins poilues, sont un peu volubiles et mesurent de 50 cm à plus de 3m de long. Les feuilles, de forme variable, possèdent de longs pétioles et leur phyllotaxie est alterne spiralée de type 2/5. Les fleurs sont campanulées, rarement fertiles, violettes ou blanches, groupées en ombelles, axillaires. Le fruit est une capsule déhiscente contenant une ou deux graines (Bouhassan, 1984).

La partie souterraine est essentiellement constituée de racines qui se comportent en vrais organes de stockage d'éléments nutritifs. Chaque plante produit quelques tubercules sur le site de plantation (10 environ) et d'autres près des nœuds. Ces tubercules pèsent entre 0,1 et plus

d'1 kg et contiennent un latex blanc et gluant. Selon la variété, ils sont de couleur variable, avec de nombreuses nuances de blanc, de jaunâtre, de rose et de pourpre (Anonyme, 2015).

Le système racinaire de la patate douce est subdivisé en plusieurs catégories de racines (Bouhassan, 1984) :

- Les racines adventives développées sur la tige à géotropisme positif ou à dia-géotropisme ;
- Les racines latérales formées sur les racines plus âgées ;
- Les racines de tubercule poussant sur les tubercules ;
- Les racines nodales : ce sont des racines préformées présentes en nombre variable au niveau de chaque nœud de part et d'autre de l'insertion du pétiole ;
- Les racines inter-nodales : ce sont des racines fines néoformées se développant le plus souvent à la base de la bouture (Figure 1).

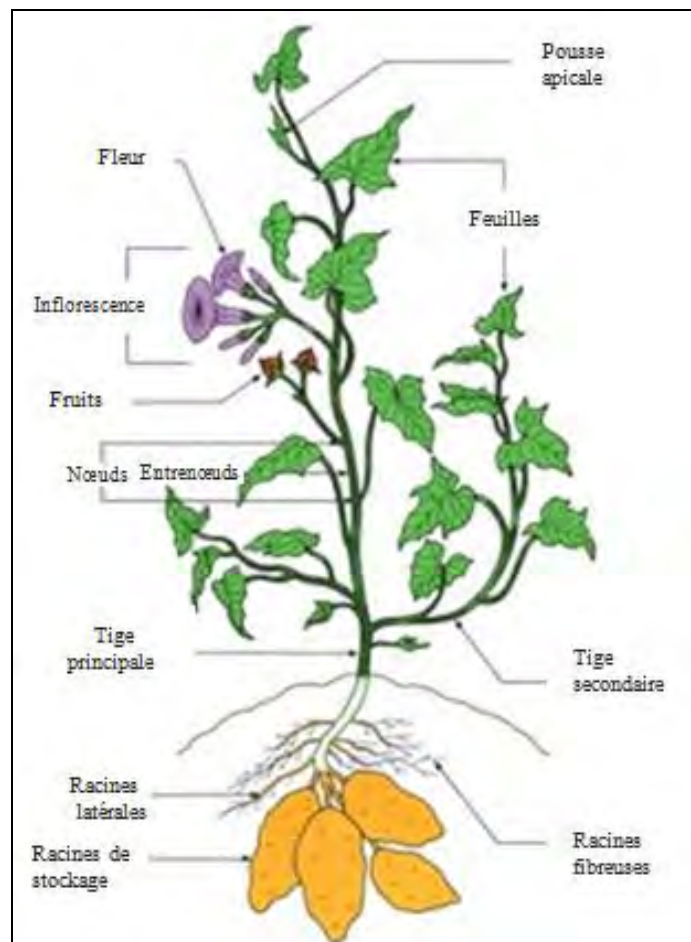


Figure 1: Composantes d'une plante de patate douce

Source : <https://cipotato.org>

1.3. Types variétaux

L'espèce *Ipomea batatas* Lam. comprend des centaines de variétés. Ces dernières se distinguent par le port et la couleur des tiges, la forme, la taille et la couleur des pétioles et des feuilles, la couleur de la peau et de la chair des tubercules, etc.

Au Sénégal, plusieurs variétés existent mais les trois plus performantes sont les suivantes (SAED, ISRA, ITA, 2009):

- 83–176 Tis : peau rouge, chair blanche et peu sucrée. Feuilles lobées, à nervures vertes parfois rougeâtres. Cycle : 120 jours
- 25–44 : peau rouge, chair blanche peu sucrée. Feuille cordiforme et nervures vertes. Cycle : 120 jours
- Fanaye : peau et chair blanches, peu sucrée. Feuille cordiforme, nervures vertes. Système végétatif très développé (grande capacité de propagation). Cycle : 180 jours.

1.4. Ecologie

La patate douce est une plante extrêmement flexible sur le plan climatique (Cheikh, 1984). Elle pousse de 32° sud à 40° nord sous une gamme variée de conditions agricoles et s'adapte bien à la chaleur, à la sécheresse, à de nombreuses maladies et ravageurs, de même qu'à des sols marginaux, pauvres et inondés. Ses aires de culture par rapport au niveau de la mer vont de 0 à 2100 voire 3000m, entre les latitudes 40° N et 32° S. Toutefois ses conditions optimales de culture sont : 24°C de température, 75 à 100mm de pluviométrie annuelle avec 50 mm pendant la période de croissance végétative. Le pH optimal du sol est de 5,6 à 6,6 (Gura, 1991).

L'espèce est plastique au point de vue édaphique, pourvu que le sol soit meuble, perméable et sans excès d'azote (Janssens, 2001). La patate douce a besoin d'un ensoleillement abondant pour son développement. Suivant les variétés, il faut entre 120 et 210 jours pour boucler le cycle (Gura, 1991).

1.5. Culture et rendement

De façon classique, il est recommandé des buttes moyennes (30 à 50 cm de haut) espacées de 1m/1m sur chacune desquelles seront placées 3 boutures. Ainsi la densité standard sera de 10 000 buttes et 30 000 plants à l'hectare. Sur des billons, la densité standard recommandée est de 33 000 plants à l'hectare, soit une plantation tous les 30 cm sur le billon.

En culture sur terrain plat, les densités sont identiques à la culture sur billon. Elle peut être plantée comme culture intercalaire dès que la culture principale est bien établie. La plantation des boutures se fait en enterrant les boutures au deux tiers de façon oblique. Pour des boutures de 3 ou 4 nœuds, il est conseillé de mettre en terre au moins 2 nœuds (Dibi, 2015). Toutefois, on peut aller jusqu'à 100.000 boutures selon les conditions du milieu. Les meilleurs résultats sont obtenus avec une densité de plantation de 80 000 plants/ha (0,50 x 0,25 cm). Elle donne un rendement supérieur que pour la plantation de 50 000 plants /ha (0,80 x 0,25 cm) (ISRA, ITA, SAED, 2009).

Le rendement moyen en milieu paysan est de 15 T/ha. Des rendements entre 40 et 60 T/ha sont obtenus dans la vallée du fleuve Sénégal selon les variétés (ISRA, ITA, SAED, 2009).

1.6. Ennemis de la culture

1.6.1. Maladies

La patate douce est attaquée par de nombreuses maladies d'origines diverses. Les plus importantes sont celles qui se répercutent directement sur la qualité de la récolte. Les plus dévastatrices apparaissent quelques heures après l'arrachage (Moyer, 1982a). Certaines de ces maladies qui apparaissent pendant la conservation sont en fait présentes avant la récolte. D'autres maladies peuvent également provenir des semences utilisées pour la multiplication (Moyer, 1982a). Les maladies virales appelées généralement SPVD (*sweet potato virus disease*) sont les maladies les plus importantes en Afrique et probablement dans le monde (Gibson *et al.*, 2004). Elles sont considérées comme la principale cause d'extinction de variétés. Elles sont transmises soit par les pucerons soit par les aleurodes (Salazar et Fuentes, 2001). Les atteintes virales sont souvent dues à des complexes de virus qui diffèrent d'une zone géographique à une autre (Salazar et Fuentes, 2001).

1.6.2. Ravageurs

Le plus dangereux des ravageurs d'après-récolte est le charançon de la patate douce (*Cylaspuncticollis* et *Cylasformicarius*). Il s'agit de petits coléoptères d'environ 6 à 8 mm de long, dont l'aspect et la biologie sont très similaires. Ces charançons et leurs larves sont les plus destructeurs parmi les ravageurs de la patate d'après Dhakhwa (2008). Les insectes s'attaquent aux racines de la patate douce dans le champ et pendant la conservation (Talekar, 1982). Les larves et les adultes vivent sur le feuillage mais préfèrent attaquer les tiges et les parties souterraines (Dhakhwa, 2008). Les larves creusent des galeries dans les tiges et les racines et les remplissent avec leurs excréments qui dégagent une odeur caractéristique qui

rend les tubercules impropres à la consommation humaine. Il est difficile de lutter contre le charançon malgré l'utilisation des insecticides (Talekar, 1982) cité par Triqui en 2009.

1.7. Intérêt et importance économique

1.7.1. Marché et économie

La production de la patate douce est moins coûteuse que la plupart des autres cultures du fait qu'elle est facile à cultiver, qu'elle a un cycle court et donne en général des rendements satisfaisants. La Chine est le plus grand producteur de patate douce suivi de la Tanzanie, du Nigeria et de l'Ouganda (FAOSTAT, 2010).

Toutefois, la culture ne paraît pas toujours très rentable dans le contexte africain et son importance y reste limitée à la consommation familiale. En effet, les travaux réalisés au Cameroun sur les plantes à tubercules et à racines ont montré que le coût de la main-d'œuvre estimé à 93 % du coût total de production, le faible rendement, la sensibilité aux pertes au stade post-récolte et les bas prix de commercialisation, empêchent une exploitation économique systématique de la culture (Dibi *et al.*, 2015).

1.7.2. Aspect nutritionnel et diététique

La patate douce est utilisée essentiellement pour l'alimentation humaine à cause de sa valeur nutritive élevée. Elle contient approximativement 20 % d'amidon et 5% de sucres simples (Huang, 1982). C'est aussi une bonne source de protéines (1,3 à 12,1 %), de vitamine A, de calcium, et de riboflavine (Cavalcante-Alves, 1996). Les cultivars à chair tachetée d'orange sont particulièrement riches en vitamine A (Moyer, 1982). La patate douce peut aussi fournir de l'énergie issue de la biomasse avec à peu près 782 galons d'alcool/acre (Cavalcante-Alves, 1996). Elle est considérée comme un aliment hautement énergétique avec approximativement 100 cal/100 g. Un hectare de patate douce peut couvrir les besoins en calcium 50 fois plus, en thiamine 8 fois plus et en riboflavine 11 fois plus que le riz en besoins journaliers (Amara et Romain, 2000).

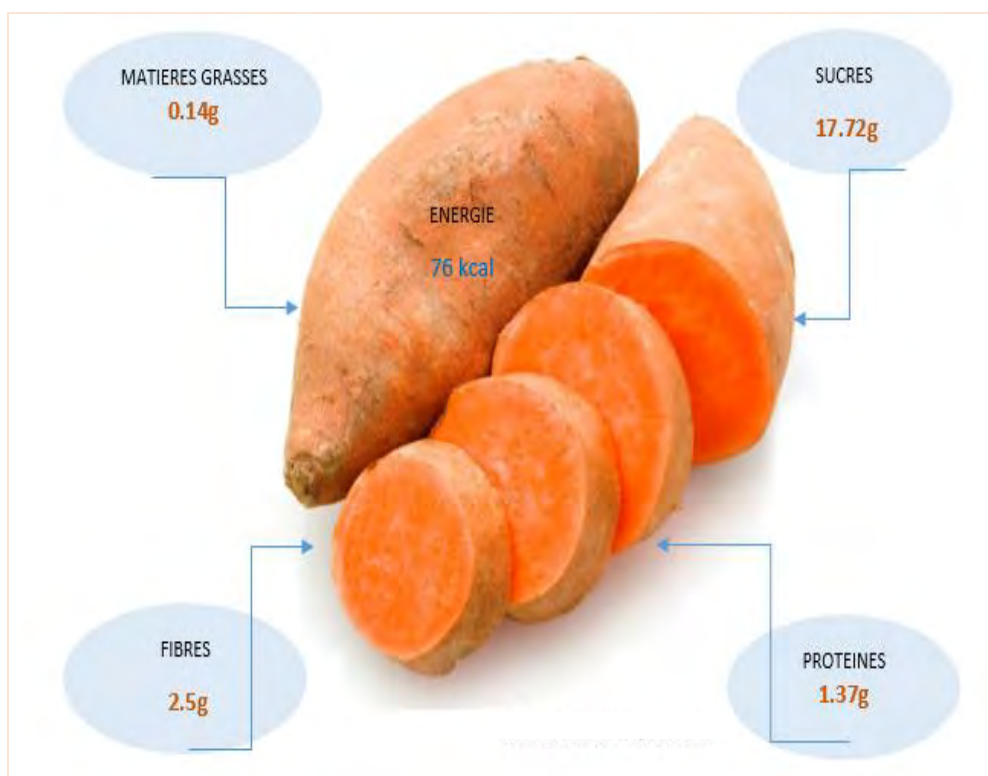


Figure 2: Composition nutritionnelle de la patate douce

Source : Centre International de Pomme de terre

Tableau 1: Teneur en nutriments de la patate douce

Minéraux	Quantité pour 100g de MS, brut, non pelé
fer (mg)	0,5
Zinc (mg)	0,2
Calcium (mg)	34
Potassium (mg)	298
Phosphore (mg)	29
Antioxydants	
Caroténoïdes (mg)	15,5
Bêta-carotène (mg)	13,1

Source: <https://cipotato.org/others/quality-nutrition-lab/>

1.7.3. Utilisations

La patate douce constitue une source précieuse de nourriture, d'aliments pour animaux et de matière première pour les industries (Anwar *et al.*, 2010). Les tiges et le feuillage sont utilisés comme fourrage (Cavalcante- Alves, 1996) cité par Glato *et al.* (2014).

La patate douce est avant tout consommée en Afrique sous forme de tubercules frais. Elle sert comme matière première, en brasserie, en amidonnerie et en féculerie. La biomasse foliaire sert en outre de fourrages et comme aliment porcin en plus d'être consommés comme légumes verts. L'incorporation de la farine aux pâtes alimentaires reste limitée en Afrique. Elle peut également servir dans la préparation de mets à base de lait et de sucre comme le « dakare » des populations autochtones de l'Adamaoua au Cameroun (FAO, 2000).

1.8. Système semencier de la patate douce

Les semences de patate douce communément connues sous le terme 'boutures' sont utilisées pour désigner les bouts de tiges qui sont plantées et qui peuvent donner plusieurs boutures. Contrairement aux vraies graines de céréales ou de légumineuses, les boutures de patate douce sont des plantes fraîches et vertes, avec une teneur en humidité élevée, encombrants à transporter et avec une durée de vie très courte (Vernier et Varin, 1994).

Etant donné que la patate douce est récalcitrante à la multiplication sexuée, il est nécessaire d'avoir un système semencier capable de maintenir en toute sécurité des semences pures et saines, de les multiplier et de les diffuser auprès des producteurs (Stathers, 2013).

1.8.1. Différents niveaux de multiplication de matériel de plantation

Le Centre International de la Pomme de terre (CIP) et ses partenaires ont défini différents niveaux de multiplication de matériel de plantation : le niveau de base, le site de multiplication primaire (PMS), le site de multiplication secondaire (SMS) et le site de multiplication tertiaire (TMS).

- Le niveau de base se trouve uniquement dans les instituts agricoles. Ils possèdent souvent des laboratoires de culture de tissus et /ou d'autres moyens de conservation des matériels de plantation exempts de virus.
- Les sites de multiplication primaires (PMS) sont étroitement supervisés par des chercheurs et se trouvent généralement dans des centres de recherche.
- Les sites secondaires de multiplication à moyenne échelle (SMS) sont mis en place pour former des points décentralisés d'accès au matériel de plantation par les agriculteurs multiplicateurs.

- Les sites de multiplication tertiaires décentralisés de niveau communautaire (TMS) représentent d'autres sites décentralisés gérés par des agriculteurs ou groupes d'agriculteurs, souvent connus sous le nom de DVM (multiplicateurs décentralisés de boutures).

Bien qu'idéalement ce soit les DMV de niveau tertiaire qui communiquent avec les agriculteurs en leur fournissant du matériel de plantation à valeur commerciale ou subventionnée, dans la pratique, les niveaux primaires, secondaires et tertiaires, fournissent tous du matériel de plantation aux producteurs (Stathers, 2013).

1.8.2. Règlements sur les semences de patate douce

En 2010, la FAO a publié des protocoles et des normes pour les cultures à multiplication végétative, notamment la patate douce. Ces normes exigent des niveaux de tolérance pour les différentes maladies et insectes ravageurs qui touchent les boutures de la patate douce.

La législation de la CEDEAO (2008) exige la traçabilité des boutures lors du transfert ou échange de matériel végétal. Ainsi tout producteur ou agro-multiplicateur devra justifier l'origine de la semence mère par des documents tels que l'étiquette de certification, la facture, le bon de livraison ou tout autre document jugé pertinent.

2. Généralités sur la culture *in vitro*

La culture *in vitro* est une technique visant à régénérer une plante entière à partir d'organes, tissus ou de cellules végétales en conditions contrôlées sur un milieu nutritif. Elle se fait en quatre phases qui sont : l'introduction du matériel végétal, la multiplication, l'enracinement et l'acclimatation (sevrage). De plus, l'usage des techniques de culture *in vitro* nécessite peu d'espace, un temps réduit et peut-être programmé indépendamment des saisons (Vidalis *et al.*, 1989).

1. Conditions physiques en culture *in vitro*

2.1.1. Lumière et photopériode

La lumière, facteur déterminant pour la culture *in vitro* des plantes, est indispensable au déclenchement et au bon déroulement de certains processus morphogénétiques. Sa qualité dépend de l'intensité de l'éclairement et de la qualité spectrale de la lumière reçue par la culture (Ghomari, 2015). La photopériode influence significativement la prolifération, la croissance et le développement de l'explant (Lepoivre, 2003).

2.1.2. Température

Dans les conditions de culture *in vitro*, la température est généralement régulée en tenant compte des espèces (tropicales ou tempérées). Pour la patate douce, elle varie entre 24/26°C en continu. Par ailleurs la température dans les flacons de culture peut être supérieure de 2 à 4°C à la température de la pièce à cause de la lumière. Toutefois, selon Lê, (1994), ce sont des faibles températures de 15° à 20°C qui stimulent la micro tubérisation chez la pomme de terre. Tchetché *et al.* (2008) ont pu montrer que l'incubation des vitroplants à des températures non régulières incite une irrégularité de l'évapotranspiration des plants, et par conséquent une diminution de leur croissance.

2.1.3. Hygrométrie

Elle doit atteindre environ 100% d'humidité relative dans les récipients de culture. Cependant, il est important de ne pas asphyxier les explants par un excès de condensation à la surface du milieu (Thiam, 2017).

2.1.4. Les régulateurs de croissance

Un régulateur de croissance, appelé également « phytohormone », est défini comme étant, une substance qui, suivant sa concentration absolue ou relative dans le milieu, peut supprimer, stimuler ou modifier sous certaines conditions les processus de différenciations (Vidalis *et al.*, 1989). Ils sont classés en cinq groupes : auxines, cytokinines, gibbérellines, acides abscissiques et éthylènes (Margara, 1989).

Les auxines et les cytokinines sont des régulateurs de croissance indispensables au bon démarrage et à l'entretien de cultures de tissus végétaux en conditions *in vitro* (Skoog et Miller 1957).

2. Les techniques de culture *in vitro*

Plusieurs techniques sont utilisées pour la culture des tissus.

2.2.1. Embryogenèse somatique

Cette technique a été décrite pour la première fois chez la carotte en 1958 par Reinard et Stewart cité par Ghomari *et al.* (2015). A la suite de ces travaux sur des cultures cellulaires de carotte, l'embryogenèse somatique expérimentale a été largement développée chez un grand nombre d'espèces monocotylédones en raison des difficultés à leur micropropagation *in vitro* (Michaux-Ferrière *et al.*, 1992). Toutefois, cette technique est désormais répandue chez les dicotylédones tant herbacées que ligneuses (Sané, 1998 ; Sané *et al.*, 2006; Sané, 2007).

2.2.2. Culture de méristèmes

Le méristème apical correspond au dôme apical entouré d'une paire ou de deux paires de primordia foliaires. Il est constitué de tissus en expansion continue, conférant une organogenèse permanente chez les végétaux supérieurs (Iftekhar, 2010). Plusieurs travaux ont été réalisés dans le but d'obtenir des plants indemnes de virus par la technique de culture de méristème. En général, ces derniers sont cultivés sur milieu MS additionné de BAP, d'ANA et GA3 (Triqui, 2009). La détection des virus peut se faire soit par indexage en greffant la plante supposée infectée sur des plantes indicatrices sensibles telle que *Ipomoea setosa* ou par détection sérologique de type ELISA ou Dot-ELISA (Feng *et al.*, 2000).

2.2.3. Micropropagation

La micropropagation apporte un avantage considérable par rapport aux méthodes traditionnelles avec des taux de multiplication de 100 à 1000 fois plus élevés et en un temps plus réduit (Ochette, 2005).

D'un point de vue pratique, les systèmes de production de semences par micropropagation représentent une alternative intéressante et efficace pour constituer rapidement un stock de matériel de qualité sanitaire irréprochable. Ils peuvent aisément être intégrés dans le cadre d'un approvisionnement en plants de haute qualité destinés à la production de semences certifiées (Changins, 2011).

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est issu de plants de patate douce provenant de la collection du Centre International de Pomme de terre élevés en serre et de boutures prélevées dans les parcelles de la station de l'ISRA à Sangalkam.

Les tests ont porté sur une variété à chair jaune-blanchâtre Boly et deux autres à chair orange Dina et Beau Regard.

2. Méthodologie

2.1. Désinfection des explants

Des tiges de patate douce saines ont été prélevées sur des plants de 2 mois élevés sous serre. Elles ont été abondamment lavées à l'eau de robinet puis passées à l'alcool 70° pendant une durée de 30 secondes avant d'être rincées trois fois de suite avec de l'eau savonneuse. Les tiges ont ensuite été désinfectées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 4° chlorométrique sous la hotte à flux laminaire. Différents temps de trempage des tiges ont été testés 10 ; 15 ; 20 ; 25 et 30 minutes en vue de définir le temps qui permet d'enregistrer le taux de reprise des boutures le plus élevé associé à un plus faible taux d'infection des explants. Trois séries de rinçages de 5 mn ont été effectuées avec de l'eau distillée stérile après chaque temps de trempage. Les tiges ainsi désinfectées ont été découpées sous la hotte en boutures uni nodales de 1 à 1,5 cm puis sont placées en culture dans des tubes à essais contenant 15 ml d'une solution de Murashige et Skoog (1962) additionnée de kinétine.

Les taux de décontamination, de débourrement et de nécrose des explants en fonction du temps de trempage dans l'hypochlorite de sodium à 4° chlorimétrique ont été estimés par rapport au nombre d'explants mis en culture (24 tubes par traitement).

Les fragments de tiges destinés à la culture de méristèmes, ont été prélevés à un stade précoce à l'extrémité des tiges des plants élevés en serre. Ils sont moins durs et très fragiles. Ainsi, un temps de trempage de 10 mn a été effectué sur tous les traitements suivis de 3 rinçages d'une durée de 5 mn chacun à l'eau distillée stérile.



Figure 3: Désinfection des explants : a) boutures issues de plants élevés en serre, b) Explants en désinfection à différents temps de trempage

2.2. Préparation des milieux de culture

Afin de préparer 1 L de milieu de culture de base MS (Murashige et Skoog 1962) solide, nous avons mélangé 20g de sucre, 100 mg de myo-inositol, 50 ml de solution macroéléments, 1 ml de solution macroéléments, 1 ml de solution de vitamines, 5 ml de solution de Fer EDAT dans une q.s.p 1L d'eau distillée. Les milieux sont solidifiés avec de l'Agar (7 g/l) après ajustement du pH à 5,7. Ils sont ensuite placés dans un four microonde jusqu'à ébullition avant d'être distribués dans les tubes à essais à l'aide d'un distributeur automatique. Pour chaque traitement (culture de méristèmes et micropropagation), 24 répétitions ont été réalisées puis stérilisées à l'autoclave.

Les tests sur la micropropagation ont été réalisés sur le milieu de Murashige et Skoog (1962) solide additionné de différentes concentrations de kinétine : 0 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; et 3 mg/l.

La culture de méristèmes a été effectuée sur un milieu de Murashige et Skoog (1962) liquide supplémentés de Kinétine et de GA₃. La kinétine a été ajoutée avant la stérilisation du milieu. Par contre, la GA₃, thermolabile, a été stérilement ajoutée sous la hotte à flux laminaire à l'aide d'un filtre millipore, une aiguille et d'une micro pipette à cône stérile. Les concentrations en phytohormones additionnées sont présentées dans le tableau 2.

L'état de stérilité des milieux a été vérifié en conservant les tubes remplis pendant 3 jours avant utilisation.

Tableau 2: Concentrations des phytohormones ajoutées aux milieux liquides de base MS utilisés pour la culture de méristèmes

Milieux de culture	Concentration en mg/l	
	GA3	Kinétine
A	0	0
B	0	0.5
C	1	0.5
D	2	0.5
E	3	0.5

2.3. Culture de méristèmes

2.3.1 Substrat et conditions de culture

Les tubes contenant des bouts de papiers absorbants sont stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C sous une pression de 1 bar. Le papier absorbant a pour rôle d'empêcher les méristèmes de s'immerger dans les milieux liquides (A, B, C, D et E) tout en gardant une humidité de 100%. Pour chaque traitement, 24 tubes ont été utilisés à raison de 10 ml de milieu liquide par tube.

2.3.2 Initiation des méristèmes

La culture de méristème a été faite sur la variété Beau regard. Les explants préalablement prélevés sont trempés dans l'hypochlorite de sodium (4° chlorométrique) pendant 10 mn. Après 3 rinçages de 5 mn dans l'eau distillée stérile, ils sont mis en culture dans un milieu de base MS non supplémenté en phytohormones pendant une semaine pour jauger leur réactivité et leur état de stérilité. Le prélèvement des méristèmes a été effectué sur les micro-boutures non infectées en utilisant une aiguille hypodermique stérile et un scalpel à l'aide d'une loupe binoculaire à lumière froide sous la hotte à flux laminaire. Pour éviter la déshydratation, les méristèmes isolés (0,3-0,5 mm) ont été transférés rapidement sur le papier filtre en tubes, scellé puis placé en chambre de culture. Les cultures ont été maintenues à une température de 26°C sous une photopériode de 16h jour/8h nuit, une intensité lumineuse de 66 lux et une humidité absolue de 45%. Après 8 semaines, les méristèmes développés ont été repiqués sur un milieu MS solide dépourvu d'hormone.

Les paramètres étudiés après 8 semaines de culture ont porté sur la réactivité, la croissance et le développement des méristèmes, les taux de callogénèse et de pertes par rapport au nombre de méristèmes initialement mis en culture (24 pour chaque traitement).

2.4. Micropropagation

Les vitroplants issus des boutures introduites et désinfectées sont découpés en explants un-nodaux d'une taille de 1 à 1,5 cm. Ces derniers sont placés dans des tubes contenant un milieu de culture de base MS additionné de différentes concentrations de kinétine. Les tubes étiquetés ont été placés en chambre de culture sous les conditions précédemment décrites (cf. ¶ 2.3.2). Au bout de 6 à 8 semaines de culture, les vitroplants enracinés ont été transférés dans des mini serres pour acclimatation.

Les paramètres mesurés sur les 24 tubes de chaque traitement au bout de 30 et 60 jours de culture ont porté sur la longueur de la tige, le nombre de nœuds et le développement racinaire.

- La longueur des tiges a été mesurée en centimètre à l'aide d'un pied à coulisse ;
- Le développement racinaire a été évalué sur une échelle de 0 à 5 : **0** pas de racine ; **1** = très peu (1 à 3 racines) ; **2** = Peu (4 à 7 racines) ; **3** = Moyen (8 à 11 racines); **4** = Assez (12 à 15 racines) ; **5** = Beaucoup (> 15 racines).

2.5. Acclimatation en mini serre

L'acclimatation s'est faite à partir du protocole d'acclimatation décrit dans la fiche technique de la pomme de terre de l'ISRA (Diallo *et al.*, 2015).

2.5.1. Préparation des mini serres

Des mini serres rectangulaires d'une dimension de 2 m³ (2 m de longueur, 1 m de largeur et 1m de hauteur) ont été confectionnées. Elles ont été recouvertes à la base par une toile en plastique percée de petits trous pour le drainage de l'eau et d'une toile plastique transparente doublée d'une autre de nature insect-proof qui couvrent la totalité de la mini serre (Figure 4a). Un volume de 105 litres de terreau stérile (composition en **Annexe 2**) a été répandu comme substrat de culture à la base de la mini serre (Figure 4 b). Cette dernière a été ensuite placée sous la grande serre dans un endroit propre et ombragé.



Figure 4: Préparation des mini serres : a) mini serre couverte de toile, b) mini serre remplie de terreau stérile

2.5.2. Acclimatation des vitroplants

Les racines des vitroplants sont nettoyées à grande eau pour enlever la gélose puis sont trempées pendant 3 mn dans une solution à 1g/l de benlate (antifongique). Les vitroplants ainsi nettoyés sont repiqués méticuleusement dans le terreau à raison de 210 vitroplants par mini serre soit des écarts de 9,5 cm entre les lignes et 10 cm sur une même ligne.

L'intérieur et les parois de la mini serre sont aspergés d'eau jusqu'à saturation de l'environnement des vitroplants en humidité. Le sevrage des plants s'est fait en aérant graduellement (à partir de la deuxième semaine d'élevage) la mini serre par ouverture progressive du couvercle en plastique. Toutefois, la mini serre a toujours été maintenue hermétiquement fermée avec la toile insect-proof pour éviter toute contamination ou attaque de pucerons. L'entretien de la culture s'est fait par arrosage régulier à l'aide d'un asperseur manuel (tous les deux jours) et le binage du terreau a été réalisé au fur et à mesure que les plants se développent pour favoriser une bonne aération des racines.

Le taux de reprise a été noté chaque semaine et au bout de 2 mois de culture, les boutures ont été récoltées, puis repiquées sur différents substrats.

2.6. Production de boutures sous mini serre

2.6.1. Mise en place des traitements

Ces tests ont été réalisés sur la variété Boly qui s'est révélée plus réactive en conditions *in vitro* par rapport aux autres variétés. Cinq types de substrat combinant différents pourcentages de terreau et de sol de Sangalkam stérile ont été utilisés et testés dans quatre mini serres de 2m³ chacune.

Le sol de Sangalkam a été préalablement stérilisé en l'aspergeant avec de l'eau dans un tonneau chauffé durant 30 mn avec un feu de bois (Figure 5).

Les tiges ont été coupées à l'aide de ciseaux en boutures de 1 à 2 nœuds mesurant respectivement 4 et 8 cm (Figure 6).



Figure 5: Stérilisation du sol

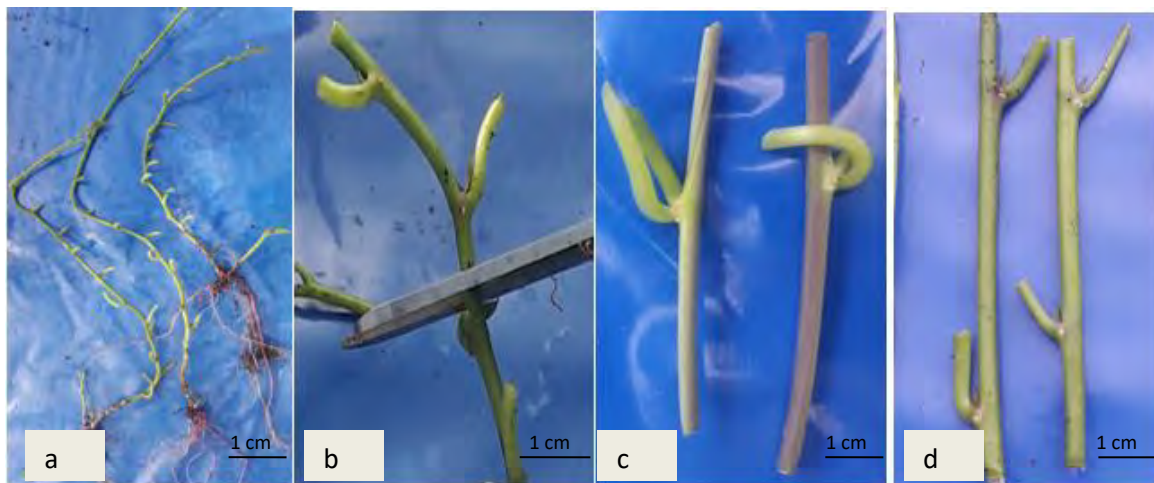


Figure 6: Matériel végétal : a) tiges récoltées et effeuillées, b) coupe des tiges en boutures, c) boutures à 1 nœud, d) boutures à 2 nœuds

Pour un volume total de substrat de 105 litres (soit 36 kg), les traitements suivants ont été réalisés : terreau 100% (T100) ; mélange terreau-sol aux taux respectifs : 75% + 25% (TS25) ; 50 % +50% (TS50); 25% +75% (TS75) et sol 100% (S100).

Chaque mini serre contenant un type de substrat donné a été divisé en deux parties : sur l'une sont repiquées des boutures à 1 nœud et sur l'autre des boutures de 2 nœuds (Figure 7 b et c). Une distance de 0,2m a été maintenue pour séparer les traitements comportant les boutures à 1 et 2 nœuds au sein d'une même mini serre. La densité de semis a été la même pour l'ensemble des traitements, soit 90 boutures pour une superficie de 0,9 m² soit 0,1m d'écart entre les boutures.

L'ensemble des traitements est résumé dans le tableau ci-après :

Tableau 3 : Récapitulatif des traitements

Substrat		Nombres de nœuds	Traitement
Terreau	Sol		
100	0	1	T1001N
		2	T1002N
75	25	1	TS251N
		2	TS252N
50	50	1	TS501N
		2	TS502N
25	75	1	TS751N
		2	TS752N
0	100	1	S1001N
		2	S1002N



Figure 7: Conditions de repiquage des boutures de seconde génération a) mini serre contenant T100 et S100; b) mini serre contenant le substrat TS25; c) mini serre contenant le substrat TS75; d) mini serre contenant le substrat TS50

2.6.2. Paramètres étudiés

Les paramètres étudiés ont porté sur la croissance et le développement des tiges (nombre de feuilles et allongement). Les relevés de données ont été effectués à 15, 30 et 60 jours après repiquage des boutures. Pour chaque traitement, des carrés de 4 plants ont été choisis de façon aléatoire puis randomisés 4 fois. Ceci a été refait à chaque date de relevée de données jusqu'au terme de la culture à 60 jours de développement.

3. Analyse statistique des données

Les données obtenues sur l'ensemble des paramètres étudiés ont été saisies sur Excel et analysés par ANOVA à l'aide du logiciel XLSTAT version 2016.

RESULTATS

1. Désinfection des explants

Effet du traitement à l'hypochlorite de sodium sur la désinfection des explants

Dans nos conditions de culture, les explants ne sont pas détruits par le désinfectant quel que soit le temps de trempage dans l'hypochlorite de sodium à 10, 15 et 20, 25 et 30 minutes (Figure 8).



Figure 8: Fragments de tiges après 30 mn de trempage dans l'hypochlorite de sodium à 4° chlorimétrique

Le taux de décontamination des explants le plus élevé (96%) est obtenu lorsque les explants sont trempés pendant 30 min dans de l'hypochlorite de sodium à 4° chlorimétrique. En revanche, il apparaît que les taux de débourrement des explants sont inversement proportionnels à leur temps de trempage dans l'hypochlorite de sodium (Figure 9).

Après 15 mn de trempage, on note d'importants taux de décontamination (67%) et de débourrement (88%) non associés à une quelconque destruction du matériel végétal (nécrose, vitrification) contrairement au temps de trempage à 30 mn (Figure 9).

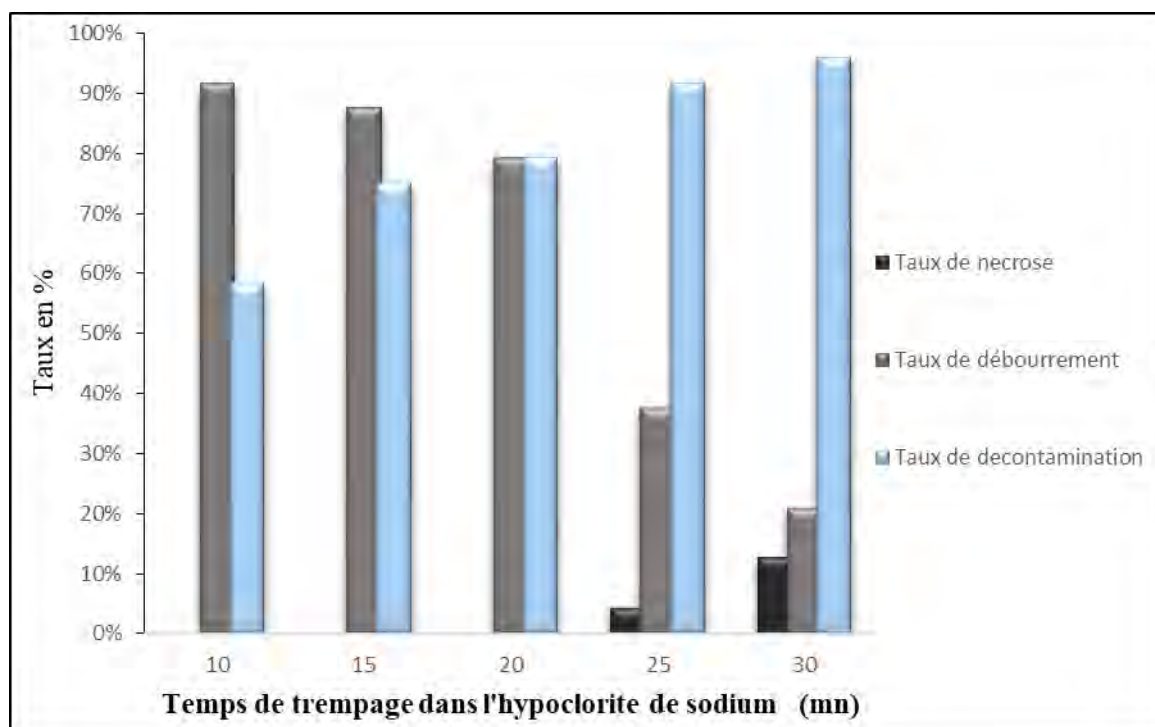


Figure 9: Taux de décontamination, de débourrement et de nécrose des explants en fonction du temps de trempage dans l'hypochlorite de sodium à 4° chlorimétrique après 60 jours

Effectif : 24 explants pour chaque temps de trempage

2. Assainissement et réactivité des méristèmes

Dans nos conditions d'expérience, les méristèmes cultivés ont été prélevés à partir d'apex ou de bourgeons axillaires préalablement trempés pendant 10 mn dans une solution d'hypochlorite de sodium à 4° chlorimétrique. Les taux de décontamination obtenus dans ces conditions varient entre 86 à 100%. C'est à partir de ces explants décontaminés que les méristèmes ont été prélevés puis mis en culture dans différents milieux contenant de la kinétine et de la GA3.

Les résultats concernant la culture de méristèmes sont reportés dans le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4: Taux de réactivité, de callogénèse, de croissance et développement et de pertes des méristèmes en fonction des milieux de culture après 60 jours de culture

	Milieux de culture	Taux de réactivité	Taux de croissance et développement	Taux de callogénèse	Taux de pertes
A	0 mg/l GA3-0 mg/l Kin	57%	0%	43%	43%
B	0 mg/l GA3-0,5 mg/l Kin	28%	0%	14%	71%
C	1 mg/l GA3-0,5 mg/l Kin	57%	43%	14%	43%
D	2 mg/l GA3-0,5 mg/l Kin	43%	29%	14%	57%
E	3 mg/l GA3-0,5 mg/l Kin	86%	57%	29%	14%

Effectif : 24 méristèmes par traitement sur milieu de base MS

Les taux de réactivité varient entre 28 et 86% en fonction du milieu. Le taux le plus élevé (86%) a été noté sur le milieu E contenant 3mg/l de GA3 et 0,5mg/l de kinétine.

Le taux de croissance et développement des méristèmes en vitroplants est nul sur les milieux A et B. Seuls les milieux C, D et E présentent respectivement, après 60 jours de culture, 43 ; 29 et 57% de méristèmes ayant évolué en plants pourvus d'ébauches foliaires (Figure 10b et d).

La formation de cals a été notée sur tous les milieux de culture. Toutefois, les taux de callogénèse les plus élevés (29 et 43%) ont été enregistrés dans les milieux A et E avec respectivement 0 et 3 mg/l de GA3.

Des pertes d'explant plus ou moins importantes (jusqu'à 71%) ont été enregistrées du fait de l'immersion (asphyxie) de certains méristèmes dans le milieu liquide. Il convient de noter qu'après 60 jours de culture, les méristèmes qui ne se sont pas développés en plant gardent néanmoins leur aspect verdâtre et semblent encore conserver leur capacité morphogénétique.

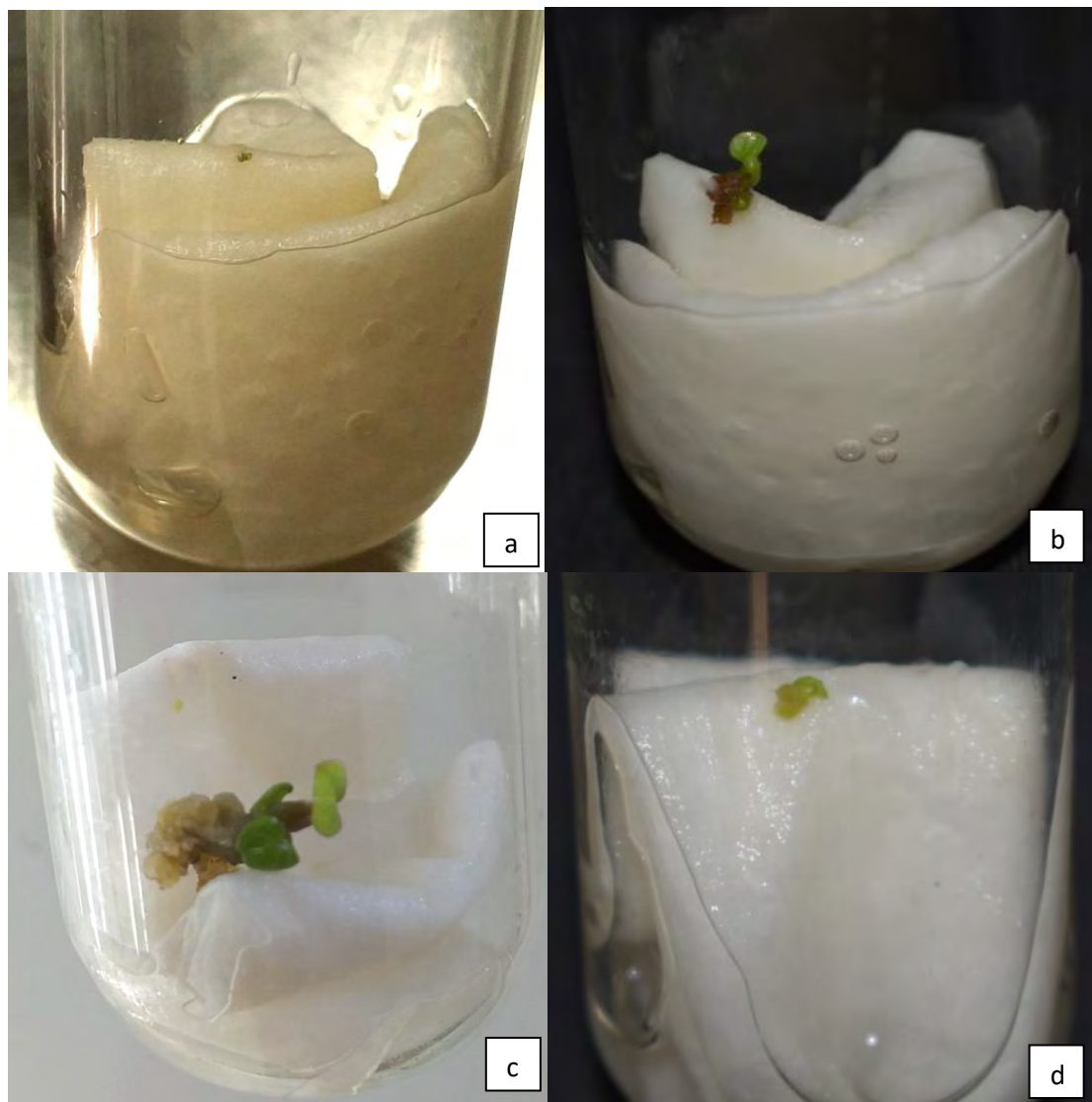


Figure 10: Culture de méristèmes sur papier filtre placé sur milieu de culture MS liquide contenant différentes combinaisons d'hormones (GA3 et kinétine) : méristèmes sur milieu E à T = 0 (a) ; méristèmes sur milieu E à T = 30 jours (b) ; méristèmes sur milieu E à T = 60 jours (c) ; méristèmes sur milieu C à T = 30 jours (d)

NB : On remarque que le milieu le plus favorable à la croissance et au développement des méristèmes correspond au milieu E illustré par la figure c.

3. Multiplication végétative *in vitro*

3.1. Effet de la kinétine sur les développements caulinaire, foliaire et racinaire des vitroplants

La mise en culture des explants dans des milieux enrichis ou non en kinétine nous a permis d'étudier l'effet de cette dernière sur la croissance des explants. L'analyse des données mesurées (Tableau 5) a porté sur toutes les variétés confondues en vue de déceler la tendance

générale de l'effet de la kinétine sur l'expression morphogénétique des explants de patate douce.

Tableau 5: Effet de différentes concentrations de kinétine sur les l'expression morphogénétiques des explants de l'ensemble des variétés de patate douce étudiées sur milieu de base MS après 60 jours

Concentrations de kinetine (mg/L)	0	1	1,5	2	2,5	3
Longueur des tiges (cm)	2 ± 0,3 b	3,1±0,3 ab	3,4±0,3 a	3,5±0,3 a	3,2±0,3 c a	3,1±0,3 ab
Nombre de nœuds	4,5±0,5 b	7±0,5 a	7,9±0,5 a	8,3± 0,5 a	7,2±0,5 a	7,1±0,5 a
Développement racinaire (1 à 5)	2,2±0,2 b	3,2±0,2 ab	3,4±0,2 a	3,4±0,2 a	3,1±0,2 ab	3,5±0,2 a

Sur une même ligne, les chiffres suivis des mêmes lettres alphabétiques ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey (HSD) au seuil de 95%.

Le tableau 5 montre qu'il existe un effet stimulateur de la kinétine sur le développement des explants puisque l'analyse de la variance de Tukey (HSD) révèle une différence significative au seuil de 95% entre les milieux témoins et ceux additionnés de kinétine pour les trois paramètres étudiés.

Les croissances en longueurs de tiges les plus importantes (3,4 ; 3,5 et 3,2cm), mais non significativement différentes entre elles, sont respectivement enregistrées en présence de kinétine à 1,5 ; 2 et 2,5 mg/l. Les concentrations de kinétine à 1 et 3 mg/l ne stimulent pas de façon optimale le développement des tiges.

Une différence significative est notée concernant le nombre de nœuds qui passe du simple (4) chez le témoin au double (8) en présence de 2 mg/l de kinétine. Toutefois, l'addition de kinétine stimule de la même manière la formation de nœuds quelle que soit la concentration apportée puisqu'il n'y pas de différence significative entre les concentrations de kinétine supplémentées.

La même tendance enregistrée sur la longueur des tiges est notée sur le développement racinaire. Cependant c'est le milieu supplémenté de 3mg/l de kinétine qui permet d'obtenir le taux d'enracinement le plus élevé (3,5 racines en moyenne).

3.2.Effet de la kinétine sur la croissance et le développement des 3 variétés de patate douce

3.2.1. Effet de la kinétine sur la croissance en longueur des tiges chez les 3 variétés de patate douce

La figure 11 révèle que les variétés ne se comportent pas de la même manière dans les mêmes conditions de culture.

L'analyse de la variance de Fisher (LSD) au seuil de 95% révèle une différence significative concernant la croissance en longueur des explants de la variété Boly cultivée dans les différents milieux. La concentration de kinétine à 2mg/l, est celle qui stimule de façon optimale le développement des explants de la variété Boly qui s'allongent jusqu'à atteindre une longueur moyenne de 4,5 cm significativement égale à celles favorisées par les concentrations de 1,5 et 2,5mg/l (Figure 11a).

La croissance en longueur des explants de la variété Dina présente des différences significatives suivant la nature des milieux testés selon le test de Fisher (LSD) au seuil de 95%. En effet, comparativement aux autres conditions de culture, un effet stimulateur significatif et optimal de la kinétine est observé sur la croissance en longueur des explants (2,7 cm) quand ils sont cultivés en présence de 1mg/l de kinétine. L'analyse statistique révèle aussi que l'absence de kinétine ainsi que les fortes concentrations à 2,5 et 3 mg/l ne stimulent pas de façon optimale le développement des explants (Figure 11b).

Quant à la variété Beau regard, une différence significative est également notée entre les milieux supplémentés ou non (témoin) de kinétine. Les milieux supplémentés de kinétine à 1,5 ; 2 ; 2.5 et 3mg/l stimulent le plus la croissance en longueur des explants qui atteignent respectivement des longueurs moyennes non significativement différentes de 3,8 ; 3,5 ; 3,4 et 3,9 cm (Figure 11c).

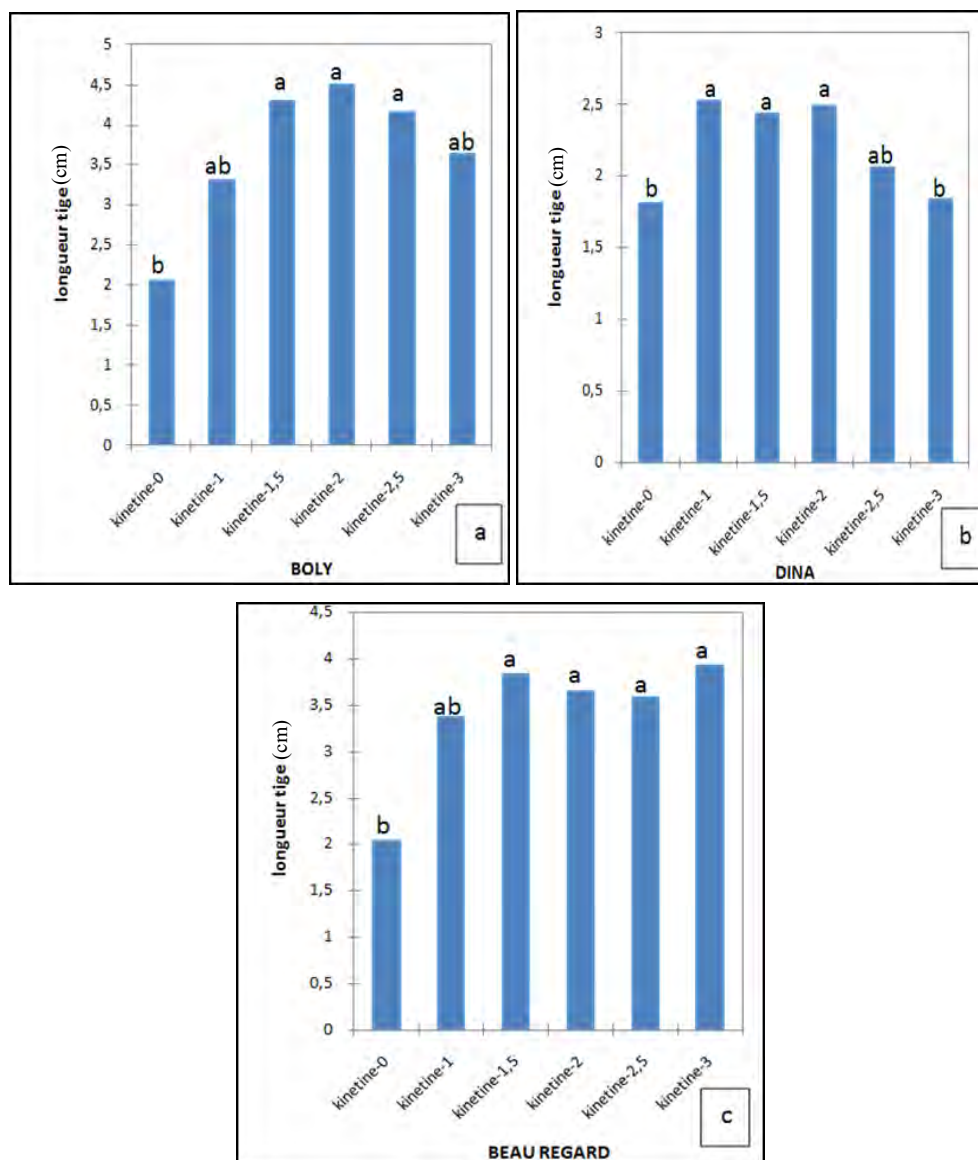


Figure 11: Effet des différentes concentrations de kinétine sur la croissance en longueur (en cm) des vitroplants chez les variétés Boly (a) Dina (b) et Beau regard (c) sur le milieu de base MS

Effectif: 24 vitroplants par traitement ; Sur une même figure les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas significativement différents selon le test de Fisher (LSD) au seuil de 95%.

3.2.2. Effet de la kinétine sur la néoformation de bourgeons nodaux chez les 3 variétés de patate douce

De la même manière que pour la croissance en longueur des tiges, l'analyse de la variance par le test de Fisher (LSD) au seuil de 95% révèle une différence significative sur le nombre de nœuds développé par les variétés Boly et Beau regard. La formation des nœuds est significativement stimulée par la présence de kinétine dans le milieu de culture. Les plus importantes valeurs sont obtenues respectivement avec 2 et 1.5 mg/l pour Boly et Beau regard.

Cependant aucune différence significative n'est observée entre les différents milieux supplémentés de kinétine (Figure 12 a et 12 c).

Pour la variété Dina , la kinétine n'a pas induit d'effet significatif sur le nombre de nœuds formés (Figure 12b).

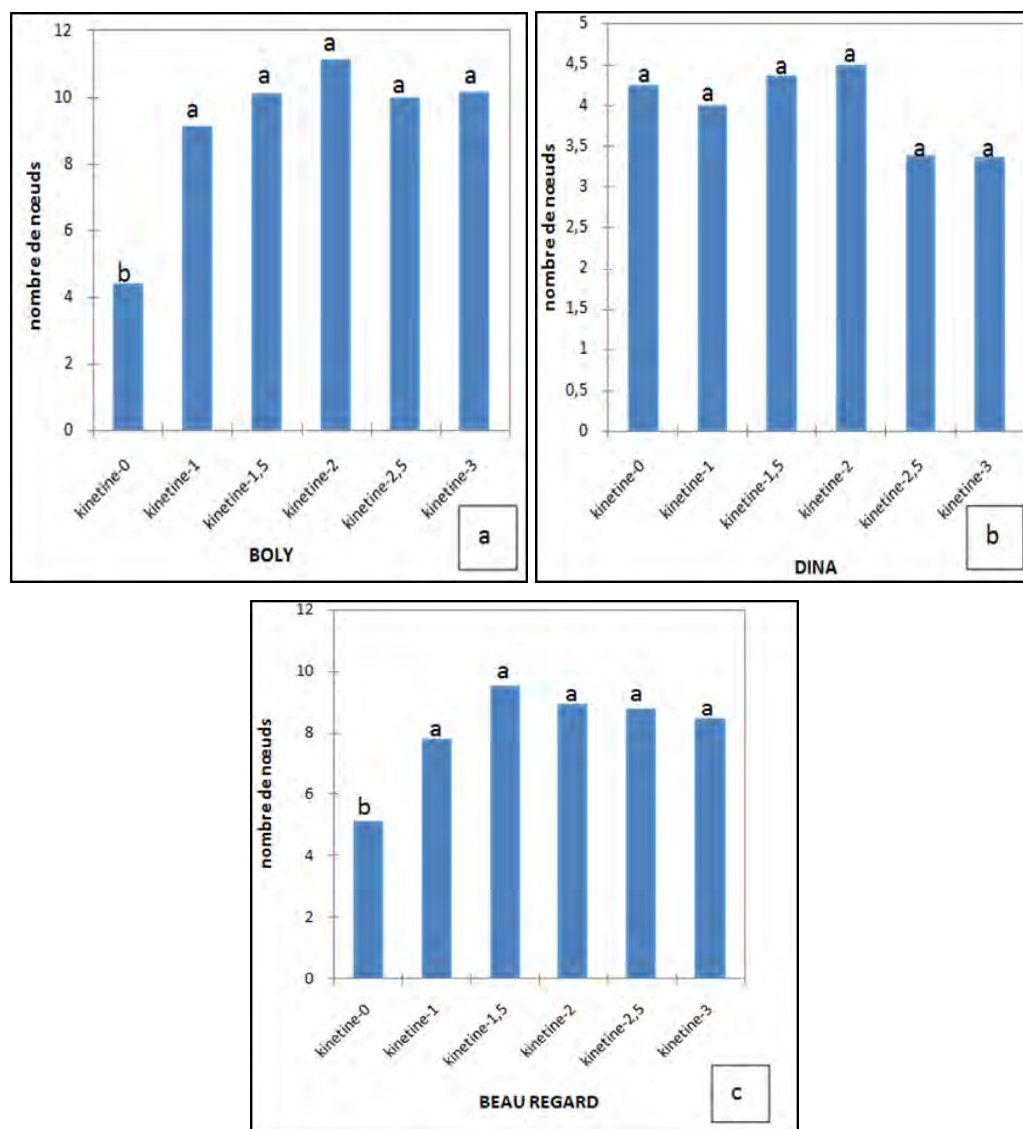


Figure 12: Effet des différentes concentrations de kinétine sur le nombre de bourgeons nodaux néoformés chez les variétés Boly (a), Dina (b) et Beau regard (c) sur le milieu de base MS

Effectif: 24 vitroplants par traitement ; Sur une même figure les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas significativement différents selon le test de Fisher (LSD) au seuil de 95%.

3.2.3. Effet de la kinétine sur le développement racinaire chez les 3 variétés

L'analyse de la variance à l'aide du test de Fisher (LSD) au seuil de 95%, montre que le développement racinaire chez la variété Boly ne révèle aucune différence significative entre les différents milieux supplémentés ou non de kinétine (Figure 13a).

Par contre, l'analyse statistique révèle un développement racinaire significatif chez la variété Dina. En effet, on observe une différence significative entre le faible taux d'enracinement des explants du milieu témoin (2) comparé à ceux plus élevés enregistrés dans les milieux supplémentés de kinétine. Le taux d'enracinement le plus élevé (4,9) des explants est obtenu en présence de kinétine à 2mg/l (Figure 13b).

Concernant la variété Beau regard, une différence significative est notée entre les taux d'enracinement enregistrés chez les explants cultivés en présence ou en absence de kinétine. Les concentrations à 1 et 1,5mg/l permettent de stimuler de façon optimale l'enracinement des explants qui atteignent des taux respectifs moyens, non significativement différents, de 3,2 et 3,6 (Figure 13c).

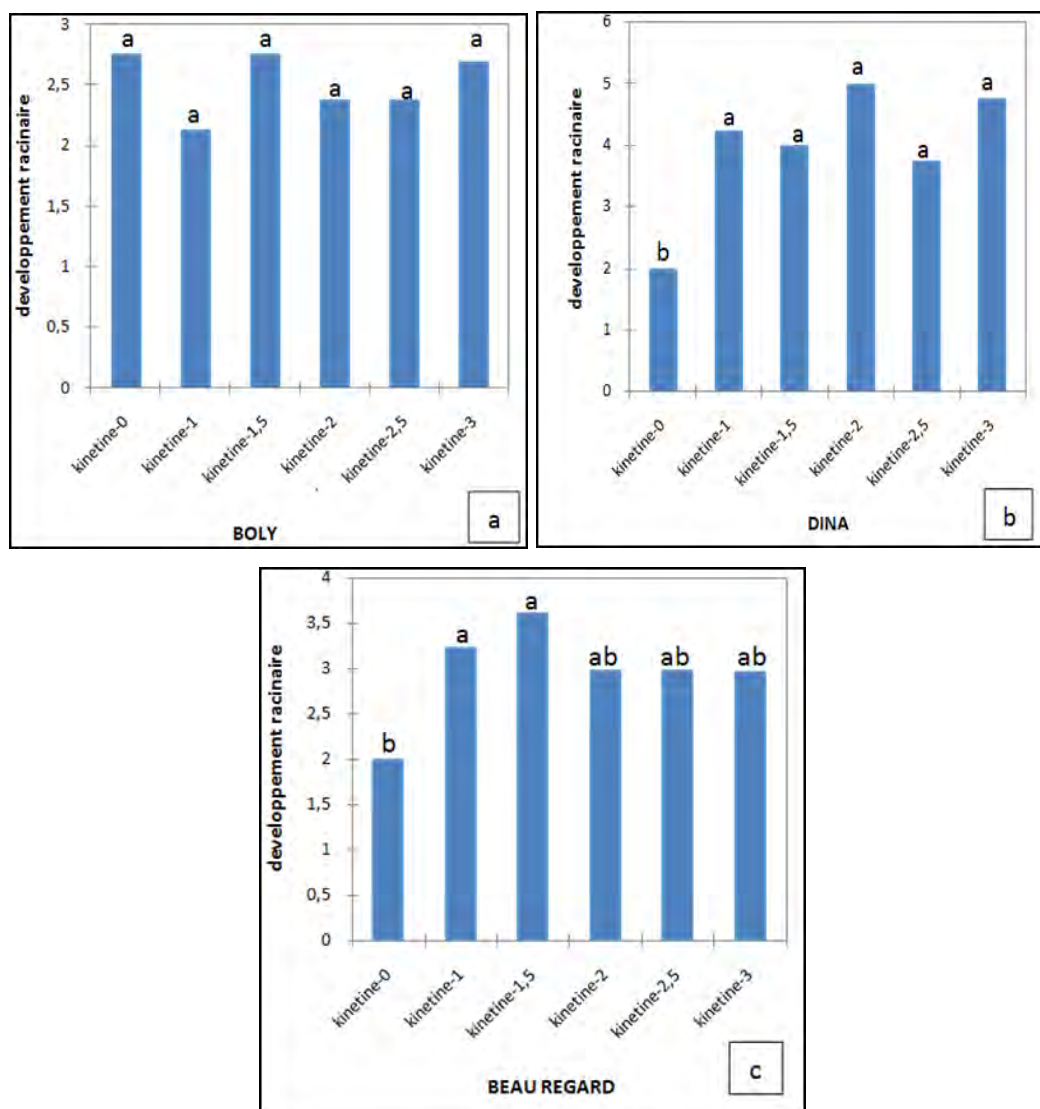


Figure 13: Effet des différentes concentrations de kinétine sur le développement racinaire chez les variétés Boly (a), Dina (b) et Beau regard (c) sur le milieu de base MS

Effectif: 24 vitroplants par traitement ; développement racinaire suivant une échelle de 1 à 5 ; Sur une même figure les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas significativement différents selon le test de Fisher (LSD) au seuil de 95%.

Les figures suivantes illustrent l'effet de la kinétine sur le développement et la croissance des vitroplants de patate douce à la concentration de 2mg/l de kinétine après 15 et 30 jours de culture *in vitro*.

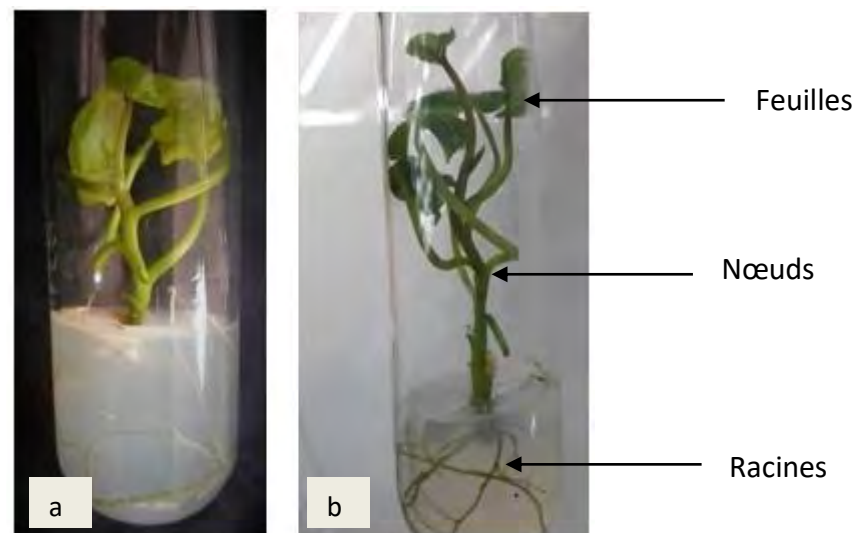


Figure 14: Vitroplants de la variété Boly cultivés en présence de 2 mg/l de kinétine sur milieu de base MS après 15 jours (a) et 30 (b) jours de culture

4. Taux de survie des vitroplants en mini serre

L'acclimatation des vitroplants s'est effectuée sur la variété Boly qui a été la plus performante en conditions *in vitro*. Elle s'est faite sur du substrat constitué entièrement de terreau stérile et a conduit à un taux de survie allant de 99% durant les premières semaines à 96% au bout de 8 semaines d'élevage en mini serre (Figure 15).

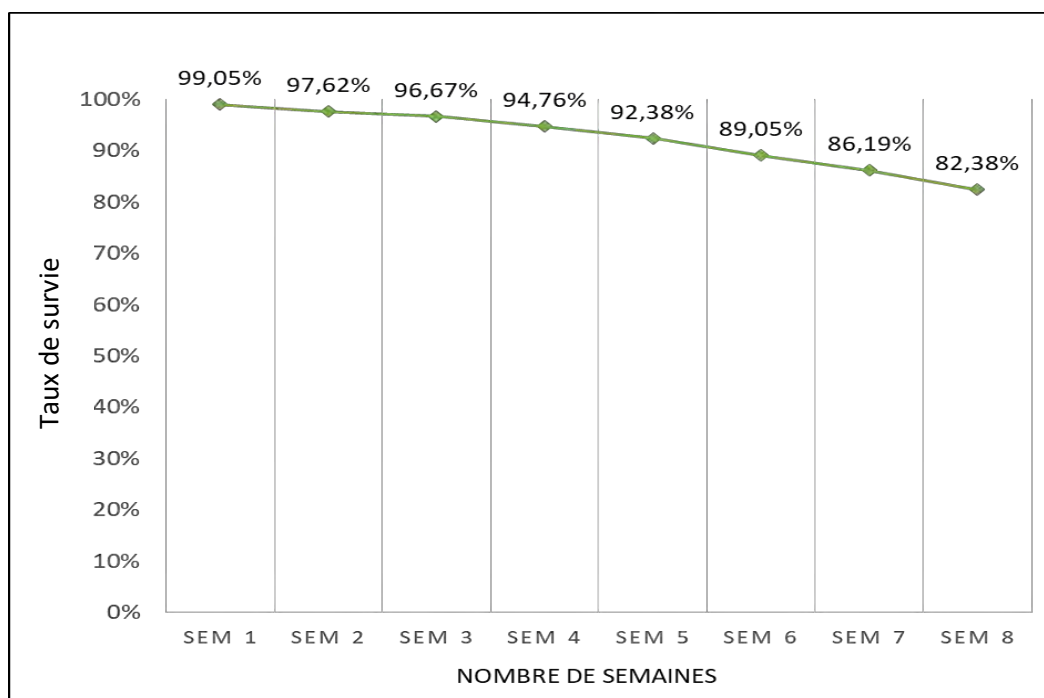


Figure 15: Taux de survie des vitroplants en phase d'acclimatation dans un mini serre rempli de terreau stérile après 8 semaines

La figure 15 nous montre un faible nombre de plants perdus durant la phase d'acclimatation ce qui correspond à un taux de survie après 8 semaines avoisinant 82,38%.



Figure 16: Développement des vitroplants en phase d'acclimatation sur du terreau : a) vitroplants à T= 0; b) plants à T=60 jours

5. Repiquage en mini serre de la variété Boly

5.1. Effet du type de bouture (1 et 2 nœuds) sur le développement des plants

Le tableau 6 traduit l'analyse des données de croissance des boutures à 1 et 2 nœuds recueillies sur l'ensemble des substrats testés. L'objectif de cette analyse groupée consiste à pouvoir apprécier le comportement des types de bouture quelle que soit la nature du substrat de culture utilisé au 30^{ème} et au 60^{ème} jour.

Tableau 6: Comparaison des moyennes de croissance et développement des plants en fonction du type bouture 1 ou 2 nœuds mis en culture sous mini serre après 60 jours

Variables	A 30 jours		A 60 jours	
	Nombre de feuilles	Longueur des tiges	Nombre de feuilles	Longueur des tiges
Bouture à 2 nœuds	6±1,3 ^a	5,2±0.6 ^a	12,4±1,3 ^a	25,5±0.6 ^a
Bouture à 1 nœud	4,2±1,3 ^a	3,1±0.6 ^b	9,7±1,3 ^a	24,2±0.6 ^a

Sur une même colonne, les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents selon le test de Newman-Keuls au seuil de confiance de 95%.

Suivant le type de bouture repiqué (1 ou 2 nœuds), le tableau 6 montre que l'analyse de variance par le test de Newman-Keuls au seuil de 95% révèle une différence significative concernant la croissance des tiges entre les plants issus des boutures à 1 et à 2 nœuds. Par contre, l'analyse ne montre aucune différence significative pour ce qui concerne le nombre de feuilles formées après 30 jours de culture. En effet, les plants issus de boutures à 2 nœuds développent des longueurs moyennes de tiges (5,2 cm) bien plus importantes que celles des boutures à 1 nœud (3,1) après 30 jours de culture. Pourtant, à ce même stade, les deux types de bouture développent des plants avec le même nombre de feuilles malgré la différence significative observée sur leur taille respective. D'ailleurs, cette dernière disparaît avec le temps puisqu'après 60 jours de culture, aucune différence significative n'est notée sur la taille des plants issus de boutures à 1 ou 2 nœuds. En effet, la différence de taille observée aux stades repiquage (1 nœud : 4 cm, 2 nœud : 8 cm) et 30 jours de culture (1 nœud: 3,1 cm ; 2 nœuds: 5,2 cm) s'estompent au bout de 60 jours de développement. Autrement dit, les boutures à 1 nœud s'allongent et développent des plants ayant les mêmes tailles et nombres de feuilles que ceux issus de boutures à 2 nœuds après 60 jours de culture.

5.2. Effet du type de substrat sur la croissance des plants

5.2.1. Comparaison des paramètres de croissance en fonction du type de substrat

Le tableau ci-après regroupe les résultats relatifs à la croissance des plants après 60 jours de mise en culture des boutures à 1 et 2 nœuds.

Tableau 7: Comparaison des moyennes de croissance et développement des plants issus de boutures à 1 et 2 nœuds en fonction de la nature du substrat après 60 jours de culture.

		Longueur des tiges		Nombre de feuilles	
	Modalités	Bouture à 1 nœud	Bouture à 2 nœuds	Bouture à 1 nœud	Bouture à 2 nœuds
TS25	Terreau 75% + Sol 25%	42,3 a	37,9 a	16,8 a	16,1a
TS75	Terreau 25% + Sol 75%	17,2 ab	25,8 ab	11,8 ab	15 a
T100	Terreau 100%	31,1 ab	27,2 ab	10,5 ab	11,8 a
TS50	Terreau 50% + Sol 50%	30,5 ab	37 a	9,2 ab	13,9 a
S100	Sol 100%	0 b	0 b	0 b	0 b

Sur une même colonne, les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents selon le test de Newman-Keuls au seuil de 95%

Les résultats du test de Newman-Keuls au seuil de 95% (tableau7) révèlent des différences significatives quant aux effets de la nature des substrats sur la croissance en longueur des plants issus aussi bien de boutures à 1 qu'à 2 nœuds. Ainsi le substrat composé de 75% de terreau et 25% de sol (TS25) apparaît comme celui qui favorise plus la croissance en longueur des plants issus de boutures à 1 nœud (42,3 cm) et à 2 nœuds (37,8 cm) après 60 jours de culture.

Une différence significative est également observée entre les substrats pour ce qui concerne la néoformation de feuilles sur les plants issus de boutures à 1 et à 2 nœuds. Ainsi, nos résultats montrent que le substrat TS25 est celui qui stimule le plus la formation de feuilles sur les plants issus de boutures à 1 nœud (16,7) et à 2 nœuds (16).

Le traitement à 100% de sol (S100) ne favorise pas le développement des boutures. En effet, après 60 jours de culture, une dégénérescence de la plupart des plants a été observée sur ce substrat.

Le test de Neuwman-Keuls au seuil de 95% montre que sur chaque substrat testé après 60 jours de culture, il existe une différence significative entre les plants issus de boutures à 1 et à 2 nœuds aussi bien pour ce qui concerne leur croissance en longueur que leur nombre de feuilles dépendamment du type de substrat. Une différence significative est également notée sur le type de substrat pour ces mêmes paramètres où d'ailleurs le substrat TS25 semble donner de meilleurs résultats comme le montre le Tableau 7. Ce dernier laisse paraître que ce substrat révélé comme étant le plus favorable, favorise un bon développement des boutures à 1 nœud au même titre que ceux à 2 nœuds après 2 mois de culture engendrant par ricoché l'intérêt d'économiser en coût de production en utilisant des boutures plus courtes (1 nœud). Ces résultats sont illustrés par les figures 17.

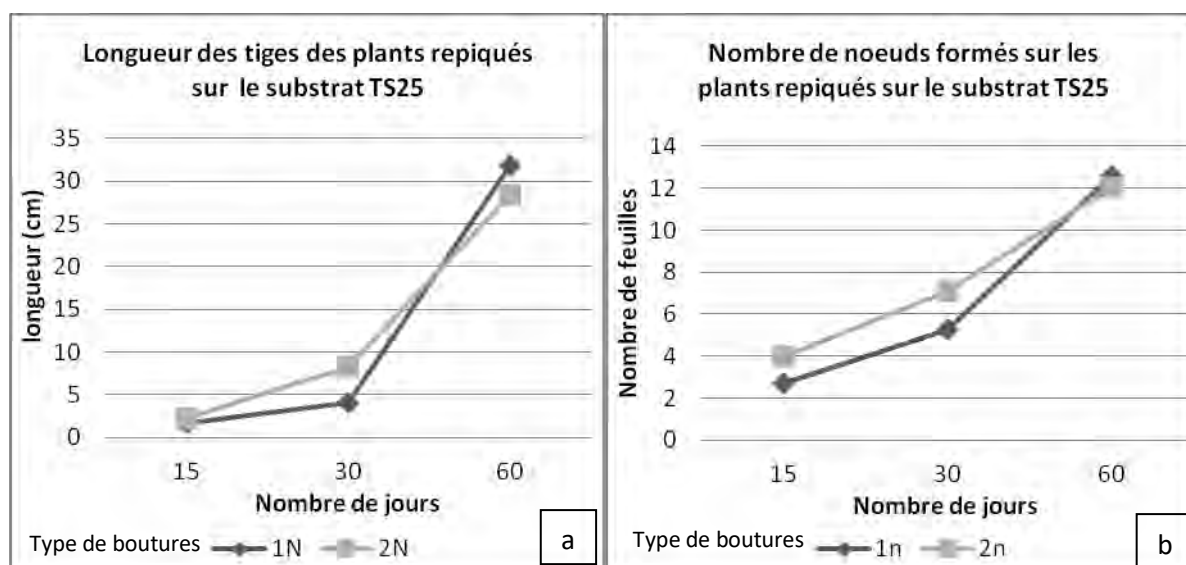


Figure 17: Croissance en longueur (a) et nombre de feuilles (b) en fonction du type de boutures (1 et 2 nœuds) sur le substrat TS25

La figure 18 (a et b) met en évidence la vitesse de croissance des plants issus des boutures à 1 et 2 nœuds confondues et élevés sur chaque substrat de culture. Il y apparaît que la vitesse de croissance et le développement foliaires des boutures sont plus importants sur le substrat à 25% de sol (TS25) dès le 30^{ème} jour de culture. Cette importante vitesse amorcée dès le 30^{ème} jour reste maintenue sur ce substrat même après le 60^{ème} jour. Par contre, la vitesse de développement et de croissance des plants décroît progressivement avec le temps sur le substrat avec 100% de sol (Figure 18a et b).

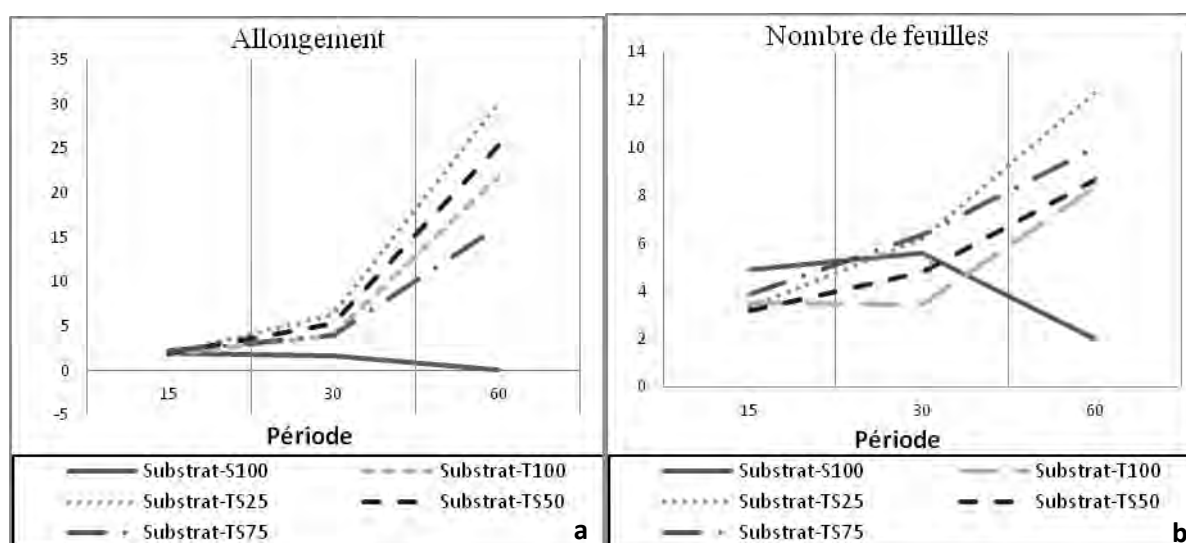


Figure 18: Croissance en longueur (a) et nombre de feuilles (b) des plants au cours du temps suivant le type de substrat

Analyse groupée sur les 2 types de bouture

Discussions

1. L'hypochlorite de sodium permet de désinfecter des explants de patate douce prélevés sur le terrain

La désinfection du matériel végétal reste une étape délicate dans le processus de multiplication *in vitro*. Les méthodes de désinfection utilisées doivent avoir un double effet qui consiste à supprimer les bactéries et champignons tout en évitant d'altérer la qualité des tissus qui pourrait conduire à leurs nécrose et à leur mortalité (Bouderrah, 1988). C'est pour ces raisons que, nous avons utilisé dans notre étude l'hypochlorite de sodium (NaClO) dilué à 4° chlorométrique qui contrairement au chlorure de mercure qui est néfaste pour l'environnement, pénètre peu l'intérieur des tissus. Cette concentration (4°) avoisine celles préconisées par Rabotovao (2004) qui recommande l'utilisation de produits chlorés à des teneurs comprises entre 5 et 12% car au-delà, ils deviennent toxiques pour les explants mis en culture. Parallèlement, Hammond (2014) a montré qu'une augmentation de la concentration ou du temps de trempage réduisait significativement le taux de contamination, mais devenait toxique ou nuisible pour l'explant en provoquant une nécrose et la mort de celui-ci. Ces observations ont été corroborées par notre étude. En effet, nos résultats ont montré que 15 mn de trempage conduit à une décontamination de 67% pour un taux de débourrement de 88% et un taux de nécrose de 0% alors qu'un trempage plus long (30 mn) conduit certes à une décontamination de 92%, mais aussi à des taux de débourrement et de nécrose respectifs de 21 et 13%.

Par ailleurs, Razdan (1993) a démontré que le type de désinfectant, la concentration et la durée d'utilisation dépendaient de la nature de l'explant et de l'espèce. Dans notre cas le matériel végétal utilisé était constitué de fragments de tiges assez robustes, ce qui expliquerait le faible taux de décoloration observé sur les bouts de fragments après 30 mn de trempage (figure 8). De tels résultats ont été corroborés par les travaux effectués sur l'oignon où quel que soit le temps de désinfection (5 à 20 mn), les explants constitués de feuilles, fragiles, sont toujours détruites par l'hypochlorite de sodium (Thiam, 2017).

2. L'acide gibbérellique associé à la kinétine stimule la croissance et le développement des méristèmes de patate douce

La culture de méristèmes a été réalisée sur un milieu liquide selon la méthode décrite par Alam *et al.* (2004) cité par Alam *et al.* (2010). L'avantage du milieu liquide réside dans la plus facile disponibilité de l'eau et des nutriments dissous à la surface des explants. Ceci suggère que l'environnement physique du milieu liquide permet à un méristème de proliférer en plant induisant la formation de vitroplants ou de cals. Par ailleurs, la régénération *in vitro* des plantes à partir de méristèmes nécessite généralement des hormones exogènes en supplément

au milieu de culture. Dans notre étude, le milieu additionné de 3 mg/l de GA3 et 0,5 mg/l de kinétine a permis d'enregistrer le plus important taux de régénération des explants (57%). De tels résultats issus de la combinaison des effets de la kinétine et du GA3 ont été rapportés sur la patate douce par Alam *et al.* (2010). En effet, ces auteurs ont pu obtenir 75% des méristèmes régénérés sur le milieu de base MS supplémenté de 0,5 mg/l de GA3 et de 2,0 mg/l de Kinétine. Par contre, Feng *et al.* (2000) ont obtenu de meilleurs résultats en cultivant des dômes méristématiques sur un milieu MS additionné de 1 mg/l de GA3, 1mg/l de BAP et 0,01 mg/l d'ANA.

Par ailleurs, des taux de callogénèse plus ou moins importants (29 - 43%) ont été notés sur les milieux de culture. Ces cals à croissance très rapide se propagent et envahissent complètement dans certains cas l'explant qui ne régénère pas de plants. De tels cals ont été également décrits sur la patate douce par Triqui (2009) qui préconise leur suppression à chaque repiquage pour éviter la perte du potentiel morphogénétique de l'explant (capacité de différenciation en vitroplants).

3. La kinétine optimise les capacités des explants de patate douce à développer des organes en conditions *in vitro*

3.1. La kinétine favorise l'élongation et la phylogénèse des explants de patate douce

Pour produire en masse des vitroplants de patate douce, nous avons cultivé les explants sur milieu MS en présence de différentes concentrations de kinétine. Un développement optimal des explants a été obtenu en présence de 2mg/l de kinétine qui a favorisé une régénération de vitroplants de 3,5cm de taille moyenne avec 8 nœuds néoformés. Des résultats similaires de l'effet de la kinétine ont été décrits par Ndoumou *et al.* (2004) chez *Irvingia gabonensis* avec des accroissements significatifs de taille en présence de 2 et 3 mg/L de kinétine. Chez les variétés de manioc BEN 86052 et Gbèzé, c'est plutôt la kinétine à 0,2 mg/l qui a permis d'obtenir la meilleure phylogénèse sur les explants (Todjiro *et al.*, 2012).

Par ailleurs, les résultats de notre étude montrent qu'une forte concentration en kinétine favorise certes un bon développement racinaire, mais inhibe l'élongation des explants. Ce résultat est en accord avec les travaux de Berrie (1984) et ceux de Gelata (2001) qui ont montré que les cytokinines synthétiques inhibent l'élongation et la multiplication des pousses à des concentrations élevées. Cependant, chez la patate douce, la kinétine est moins efficace pour stimuler la formation de nœud et la phylogénèse par rapport à la BAP (Doussouh *et al.*, 2018).

Nos résultats ont montré que les explants se développaient aussi très bien en absence de toute phytohormone. Ceci pourrait s'expliquer selon Ram Chandra (2011) par une accumulation accrue de régulateurs de croissance endogènes au sein de l'explant. Ce résultat confirme les travaux de Malaurie *et al.* (1995) qui ont montré que les variations du rapport auxine / cytokinine ont des effets précis sur le développement des explants et déterminent de ce fait le sens de l'organogenèse.

3.2. La kinétine favorise le développement racinaire des explants de patate douce

Les résultats de notre étude montrent que l'addition de kinétine (à 1,5, 2 et 3mg /l) stimule la rhizogenèse. Des effets similaires ont été rapportés chez le manioc par Todjiro *et al.* (2012) qui ont montré que la kinétine (0,2 mg/l) favorisait une rhizogenèse plus importante que la BAP (0,2 mg/l). Les résultats obtenus par Todjiro *et al.* (2013) sur le manioc ont montré que le milieu MS avec 0,2 mg/l de kinétine était plus favorable à la formation de racines. Cet effet stimulateur de la kinétine sur la formation de racines a également été rapporté par Kbiach (2002) chez le chène, Ndoumou *et al.* (2004) chez la mangue sauvage, Ahanhanzo *et al.* (2008) chez le manioc.

Cet effet de la kinétine ne saurait seulement être expliqué par le rapport auxine / cytokinine (Malaurie *et al.*, 1995) ou la présence de bourgeons qui est nécessaire à la rhizogenèse (Favre (1977). En effet, d'autres auteurs impliquent des organes comme les bourgeons et la feuille qui exercent également un effet stimulateur sur la rhizogenèse (Margara, 1989) cité par Saidi, (2009). Selon cet auteur, la néoformation de racines serait déclenchée par l'action d'une substance mobile qui est l'AIA synthétisée par les feuilles et qui migre ensuite vers la base de la tige.

3.3. La kinétine présente un effet différentiel sur la croissance et le développement chez les différents génotypes de patate douce

Nos résultats ont montré que la réponse des variétés de patate douce par rapport aux paramètres étudiés est variable pour le même type de régulateur de croissance. Les concentrations de kinétine à 1,5 ; 2 et 2,5 mg/l stimulent respectivement de façon optimale l'croissance en longueur des variétés Beau regard, Boly et Dina. La variété Beau regard s'allonge le plus en présence de 3mg/l de kinétine alors que les variétés Boly et Dina s'allongent mieux avec les concentrations respectives de kinétine à 2et 1mg/l.

Ces résultats révèlent une interaction entre les régulateurs de croissance et les génotypes étudiés. Plusieurs travaux réalisés sur la patate douce et le manioc ont également montré

l'influence du génotype sur le développement des explants en fonction des teneurs en régulateurs de croissance (Cacaï *et al.*, 2013; Glato *et al.*, 2014; Kamal *et al.*, 2015). De même, les travaux réalisés par Ahanhanzo *et al.* (2010) sur différents génotypes d'ignames ont aussi confirmé que la réponse des microboutures sous l'action des cytokinines dépend du génotype de la plante.

D'après Manrique-Trujillo *et al.* (2013), un protocole de régénération simple, efficace et reproductible pour la régénération de la patate douce doit être spécifique au génotype en raison des variations entre les réponses des cultivars en conditions *in vitro*. En effet, l'induction de l'organogenèse (bourgeons néoformés) à partir des boutures dépend des cultivars, des clones à l'intérieur d'un même cultivar, de la nature et de la concentration en phytohormones comme l'ont déjà montré Whan et Schuyler (2005) sur les trois génotypes de *Sequoia sempervirens* cité par Glato (2014).

Nos résultats ont par ailleurs, révélé une certaine récalcitrance à la multiplication de la variété Dina dans les milieux enrichis en phytohormone. De telles réponses ont été également décrites sur d'autres variétés de patate douce (Gelata, 2001, Liu *et al.*, 2001). Le comportement de ces variétés suppose que l'addition de ce régulateur de croissance exogène inhibe le développement des explants qui contiendraient différentes teneurs de régulateurs de croissance endogènes. Selon Ozturk et Atar (2004), le développement *in vitro* de ces variétés récalcitrantes pourrait être amélioré en modifiant les quantités et natures des régulateurs de croissance incorporées dans le milieu de culture.

4. L'utilisation des mini serres permet d'optimiser l'acclimatation des vitroplants de patate douce

Le transfert des vitroplants du laboratoire à la serre exige une modification graduelle des conditions environnementales (humidité, température). Ceci permet une adaptation progressive des vitroplants (Alfred *et al.*, 2013). L'acclimatation de la patate douce a été effectuée avec succès par Gong *et al.* (2005) et Xiansong, (2010).

Avec une densité de semis de 210 vitroplants sur 2m², soit un écartement de 1cm sur la ligne et 0,95 cm entre les lignes, le taux de 82% de survie et le développement des plants obtenus ont été très satisfaisants dans nos conditions expérimentales.

Ce taux de survie de 82% a été obtenu grâce à la technique d'acclimatation que nous avons adoptée et qui a été décrite sur la fiche technique de production de semences de pomme de terre de l'ISRA (Diallo *et al.*, 2016) où il a été noté un taux de survie moins important (65%).

Romuald et Anna (2013) ont obtenus 97% chez les cultivars « Carmen Rubin » et « White Triumph ». Nous avons remarqué un développement rapide des jeunes feuilles qui sont larges et bien vertes. Aucune anomalie physiologique n'a été observée pendant la phase d'acclimatation. La morphologie des plantes est similaire à celle observée en station avec beaucoup plus de vigueur. Cependant, nos taux d'acclimatation sont inférieurs à ceux obtenus par plusieurs auteurs ayant travaillé sur la pomme de terre et qui ont rapporté des taux avoisinant 100% (Demeke *et al.*, 2014; Dolinski et Olek, 2013; Glato *et al.*, 2014). D'après Auge (1989), les facteurs de réussite de l'acclimatation sont surtout basés sur bonne maîtrise des conditions extérieures notamment l'humidité relative qui est l'un des facteurs les plus importants.

5. Le type de substrat et la taille des boutures influencent la croissance et le développement des plants de patate douce pendant la phase de sevrage

Dans nos conditions expérimentales, le substrat contenant 75% de terreau et 25% de sable s'avère être le plus apte à favoriser le développement des boutures en plant. De tels résultats ont été obtenus par Mapongmetsem *et al.* (2012) chez *Vitex doniana sweet* sur un mélange terre noire/sciure et par Avana *et al.* (2000) chez *Dacryodes edulis* sur le même substrat. D'après Loach, (1985), la qualité du substrat est un paramètre très important pour le succès du processus d'enracinement des boutures. L'efficacité de notre mélange pourrait donc s'expliquer par le fait que le terreau est un substrat stérile, et léger (Mapongmetsem *et al.*, 2012), enrichi en éléments minéraux mais de nature poreuse que nous avons corrigée avec l'apport du sol de Sangalkam pour une meilleure capacité de rétention de l'eau. Marico (2016) a obtenu des résultats différents chez le manioc avec un taux de réussite de 65% sur un substrat contenant 85% du même sol et 15% du même terreau utilisés dans nos tests. Par ailleurs, les importantes pertes que nous avons enregistrées (95% des plants) sur le sol de Sangalkam (100%) s'expliquent par son caractère très pauvre en éléments minéraux bien qu'ayant une forte capacité de rétention d'eau. Parallèlement, le sol a été désinfecté pour éliminer toute source d'infection, ceci, pourrait également détruire d'autres microorganismes bénéfiques à la croissance de la plante.

Concernant la taille des boutures de seconde génération, nos résultats ont montré qu'il n'existe aucune différence significative concernant la croissance et le développement entre les plants issus de boutures à 1 ou 2 nœuds après deux mois de culture puisqu'ils régénèrent des plants de 24 cm avec 9 nœuds. Pourtant, il est conseillé dans la multiplication conventionnelle de la patate douce d'utiliser des boutures de 20 à 45 cm comportant au moins 3 nœuds (FAO

(1990), Vernier (1994), Starthurs (2013)). Selon Zok *et al.* (1998) cette préférence serait liée au fait que les boutures les plus longues possèdent un taux de survie plus élevé et leurs exigences en matière d'entretien sont moindres par rapport à celles plus courtes

Selon Stharturs *et al.* (2013), il est possible, partant d'une bouture initiale de 3 nœuds, de produire 729 boutures à 3 nœuds après un an et au bout de 6 cycles de multiplication. Ces quantités rapportées sont moins importantes que celles que nous avons obtenues dans nos travaux. En effet, notre étude permet d'obtenir sur la même durée 177.147 boutures à 3 nœuds à partir d'une seule bouture à un nœud après 6 cycles de multiplication.

Cependant, certains auteurs stipulent que, les plantules issues de culture tissulaire peuvent être couteuses et risquées pour que les agriculteurs y fassent recours, car elles nécessitent un procédé d'endurcissement minutieux afin de leur permettre de s'adapter et de survivre dans les conditions ambiantes du champ. De telles inquiétudes peuvent être surmontées avec l'appui des instituts de recherches tels que l'ISRA qui peuvent jouer un rôle important dans la formation et l'encadrement des multiplicateurs et producteurs de semences pour une meilleure adoption de la technologie proposée.

CONCLUSION

Cette présente étude a permis de mettre au point un système simple, efficient, rentable et accessible aux producteurs et multiplicateurs de semences de patate douce à travers l'assainissement, la multiplication *in vitro* des plants ainsi que la production de boutures saines sous mini serre. Les résultats de cette étude montrent qu'il est possible d'obtenir *in vitro* du matériel sain à partir de boutures de patate douce prélevées sur le terrain et par conséquent de lutter contre les maladies virales, bactériennes et fongiques qui constituent le problème majeur entravant la multiplication des semences (boutures) de cette espèce. En effet, un protocole d'assainissement des plants par la culture de méristèmes apicaux a été développé avec un taux de 57% de régénération obtenu sur milieu liquide additionné de 3mg/l de GA3 et 0,5mg/l de kinétine. Par ailleurs, un trempage des explants pendant 15 mn dans de l'hypochlorite de sodium (4°Chl) nous a permis de les désinfecter de façon optimale. L'addition de kinétine dans les milieux de culture a permis de stimuler la croissance et la multiplication *in vitro* des explants. Parmi les variétés testées, la variété Boly s'est révélée plus réactive à la multiplication *in vitro* en présence de kinétine à 2 mg/l. L'emploi des mini serres et de terreau stérile a conduit à des taux de réussite très élevés (82%) durant la phase d'acclimatation. Les plants issus de boutures à 2 nœuds croissent et se développent mieux que ceux issus de boutures à 1 nœud après 30 jours de culture sur le substrat à 75% de terreau et 25% de sol. Cependant, au bout de 60 jours de cultures, les boutures à 1 nœud produisent des plants aux caractéristiques morphologiques identiques à ceux issus de boutures à 2 nœuds. Les mini serres recouvertes de toile insectproof et remplies de substrat stérile ont permis de maintenir les plants contre toutes attaques de nuisibles et de ravageurs garantissant ainsi la production de boutures indemnes de toute maladie.

Ces résultats et méthodologies développés pourront permettre aux producteurs de mettre en place leur propre système de production de semences dès la phase d'acclimatation faisant suite à celle de la multiplication *in vitro*. Cette méthode développée garantit la qualité sanitaire des boutures et semble être économiquement rentable. Elle permet d'acquérir le matériel végétal (bouture) de qualité à moindre coût en quantité suffisante. En effet, alors qu'il est préconisée l'usage de bouture à 3 nœuds à prélever après 3 mois (moment où la plante est jugée plus apte à la multiplication), notre méthode permet d'utiliser de boutures à 1 nœud qui à seulement 2 mois, donnent les mêmes résultats que celles à 2 nœuds cultivées sur un substrat au prix allégé par l'ajout de sol à 25%.

Ces résultats obtenus chez la patate douce ouvrent de nombreuses perspectives de recherche à la fois fondamentale et appliquée qui devraient permettre (i) d'optimiser la production de semences de qualité chez la patate douce et (ii) d'évaluer leurs potentialités agronomiques. En effet, il serait intéressant au plan fondamental de :

- poursuivre l'étude de la physiologie du développement *in vitro* chez cette espèce en étudiant notamment les capacités embryogènes des cals obtenus et en procédant à la régénération de plantes entières à partir d'embryons somatiques. Cette stratégie permettra une production massale de semences sous forme de clones nécessaires pour les études d'évaluation multi-locale ;

- sélectionner et améliorer génétiquement cette variété en mettant en œuvre des stratégies d'introgession de génomes à partir des clones issus des tests d'évaluations multi-locaux. Cette approche permettrait de créer de nouvelles variétés élites d'intérêt agro-économique plus résilientes vis-à-vis des conditions édapho-climatiques locales.

- Au plan appliqué, les recherches pourraient être orientées vers : le suivi au champ des plants avec des boutures à 1 nœud comparé aux boutures de 3 nœuds conventionnellement utilisées pour des variétés autres que Boly. Cette approche permettrait d'élargir la gamme de cultivars qui se comportent comme la variété utilisée en milieu paysan.

En termes de recommandations, l'accompagnement des paysans par la formation permettra d'assurer une bonne vulgarisation et de déceler d'autres problèmes auxquels ils pourraient être confrontés et qui pourraient être surmontés grâce à l'appui des institutions de recherche.

Références bibliographiques

- Ahanhanzo C., Agbangla C., Agassounon D.T.M., Cacaï G., Dramane K. (2008)** – Etude comparative de l'influence des régulateurs de croissance sur la morphogénèse (*in vitro*) de quelques variétés de *Manihot esculenta* Crantz (manioc-euphorbiaceae) du Bénin. *Rev. CAMES - Série A*, 07: 47-52.
- Ahanhanzo C., Gandonou Ch., Agbidinoukoun A., Dansi A., Agbangla C. (2010)** – Effect of two cytokinins in combination with acetic acid α - naphthalene on yams (*Discorea spp.*) genotypes response to *in vitro* morphogenesis. *African Journal of Biotechnology*, 9 (51): 8837- 8843.
- Alam M.F., Banu M.L.A., Swaraz A.M., Parvez S., Hossain M., Khalekuzzaman M., Ahsan N. (2004)** –Production of virus free seeds using meristem culture in tomato plant under tropical conditions. *J Plant Biotechnol* 6:221-227
- Alam I., Sharmin S.A., Mondal S.C., Alam M.J., Khalekuzzaman M., Anisuzzaman M., Alam M.F. (2010)** – *In vitro* micropropagation through cotyledonary node culture of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Aus J Crop Sci.* 4(2):81-84
- Alfred O.U. et Uchenna E.O. (2013)** – Micropropagation and post flask management of *sweet potato* using locally available materials as substrates for hardening. *Plant Knowledge Journal.* 2(2): 56-61.
- Amara, N., et Romain, R. (2000)** – Mesure de l'efficacité technique: *Revue de la littérature*. Centre de recherche en économie agroalimentaire, Université Laval.
- Anwar N., Watanabe, K. N. and Watanabe, J. A. (2010)** – Transgenic *sweet potato* expressing mammalian cytochrome P450. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 105: 219-231.
- Anonyme. (2015)** : <http://www.fao.org/wairdocs/x5695f/x5695f05.htm>
- Auge R. (1989)** – La culture *in vitro* et des applications horticoles, *Lavoisier*.p.225.
- Avana T.M.L.A., Tchoundjeu Z., Bell J. M. Tsobeng A. et Abega J. (2000)** – Multiplication végétative de *Dacryodes edulis* (G. Don) Lam: effet du type de substrat et de la stimulation hormonale sur l'enracinement des boutures juvéniles sous châssis de propagation. In Kengue J., Kapseu C. et Kayem G. J. (éds). 3ème Séminaire International sur la valorisation du Safoutier et autres oléagineux non conventionnels. Actes. pp. 141-154.
- Berrie A.M. (1984)** – Germination and growth regulators. In: *Advanced Plant Physiology*, pp.987, (Malcom, W.B., ed). English Language Book Society, England.
- Bouderrah M., (1988)** – Comparaison de deux modes de *in vitro* propagation à partir de *Vitro semis d'Eucalyptus camaldulensis* provenance lakealbacutya « Micropropagation à partir de bourgeons axillaires, Micropropagation à partir de bourgeons adventifs » et étude de la variabilité du comportement de différents clones, *université de NANCY*, p.143.
- Bouhassan A., (1984)** – Analyse du polymorphisme des néoformations obtenues *in vitro* à partir de divers tissus de Patate douce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam., Convolvulacées). Thèse 3ème Cycle, Univ. Paris Sud, Orsay, 167 pp.
- Boxus P. (1974)** – The production of strawberry plants by *in vitro* micropropagation. *J. Hort. Sci.* 49, 209-210
- Cacaï G., Ahanhanzo C., Adjanohoun A., Houédjissin S., Azokpota P., Agbangla C. (2013)** – Hormonal influence on the *in vitro* budburst of some Potato (*Ipomoea Batatas* L.). *Journal of Environmental Science and Natural Resources* 6(2): 197-200.
- Cavalcante Alves J.M. (1996)** – l'embryogenèse somatique chez la patate douce (*Ipomoea batatas* (L.) lam., convolvulacées): induction et maintien des structures embryogènes, caractérisation de protéines associées. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur es-sciences de l'université Paris XI Orsay. 183p.
- Changins A. (2011)** – Des semences de pomme de terre *in vitro* à récolter en boîte de culture « Agrobiox ».
- Cheikh R. (1984)** – Etude d'un virus de la patate douce (*Ipomoea batatas* (L)) et essai de son élimination par la méthode de culture d'apex *in vitro*. Mémoire de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur horticole, institut agronomique et vétérinaire Hassan II. Institut agronomique et vétérinaire Hassan II. 30p.
- Cutis H. et Barnes N. (1985)** – *Invitation to Biology*, 4th ed. Worth publishers, New York, pp. 356–373
- Demeke Y., Tefera W., Dechassa N., Abebie B. (2014)** – Effects of plant growth regulators on *in vitro* cultured nodal explants of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) clones. *African Journal of Biotechnology* 13 (28).

- Dhakhwa S. (2008)** – Insect and related pests of vegetables *Sweet potato* Weevil *Cylas formicarius elegantulus* (Summers), Curculionidae, Coleoptera Triquizine el abidine, these de doctorat d'état, universite mohammed v-agdal, faculte des sciences-rabat, soutenue le 03 juillet 2009, N° d'ordre: 2455
- Diallo B., Samba S. A. N., Sané D., Diop T. (2013)** – Effet du chlorure de sodium sur la germination de graines de *Ricinus communis* (L.) *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7, 1534–1544.
- Diallo B., Massaer N., Ndour N.Y.B., Léye E.M., Kane N.A., Niang Y. (2013)** – FICHE TECHNIQUE, acclimatation en plein champ de vitroplants de bananier *Vol. 13, N°3* - Série FICHES TECHNIQUES ISRA – ISSN 0850-9980
- Diallo B., Ndour N.Y.B., Kane N.A., Sarr A.S., Touré M., Diouf M., Diop M (2015)** – FICHE TECHNIQUE, Technique de production de pomme de terre de prébase Acclimatation de vitroplants et production de semence de pomme de terre de prébase (F1), *Vol. 13, N°2* - Série FICHES TECHNIQUES ISRA/Novembre 2015 – ISSN 0850-9980
- Dibi K. E. B., Essis B.S., Nzue B.(2015)** – Techniques culturales de la patate douce
- Dolinski R., Olek A. (2013)** – Micropropagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) from node explants. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 12: 117-127.
- Doussoh (2018)** – Effect of cytokinins and auxin on budburst and direct organogenesis in vitro of some sweet potato landraces (*Ipomoea batatas* L.) grown in Benin. *Journal of Applied Biosciences* 131: 13347 – 13358 ISSN 1997-5902
- Favre J.M., (1977)**, La rhizogenèse, aspects divers d'un processus d'organogenèse végétale, Uni, Paris, pp.37-52.
- Feng G., Gong Y. et Zhang P. (2000)** – Production and deployment of virus-free sweet potato in China. *Crop Protection* 19: 105-111.
- FAOSTAT (2010), (2015), (2017)**. Statistics databases and data-sets of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (<http://faostat.fao.org/default.aspx>).
- FAO (2000)** ; Les richesses du sol : Les plantes à racines et tubercules en Afrique : une contribution au développement des technologies de récolte et d'après-récolte
- Geleta D. et Tileye F. (2011)** – College of Natural Sciences, Addis Ababa University, 2011 ISSN: 0379–2897 SINET: *Ethiop. J. Sci.*, 34(1): 17–28,
- Ghomari S. (2015)**, présentation: recueil des travaux de la culture in vitro végétale, université DJILALI LIABES,
- Gibson R.W., Aritua V., Byamukama E., Mpembe I. et Kayongo J. (2004)** – Control strategies for sweet potato virus disease in Africa. *Virus Research* 100 115–122.
- Glato K., Atsou A., Komi O., Koffi T., Attoh-Mensah M., Djidjolé E.K., Dzifa K.A., Aziadekey M., Akpavi S., Essozima A. (2014)** – Régénération In Vitro par organogenèse directe de pousses à partir de boutures de trois cultivars de patate douce (*Ipomoea batatas*) originaire du Togo. *European Scientific Journal, ESJ* 10(27).
- Glato K., Djidjolé E.K., Mensah S., Koffi T., Atsou A. (2013)** – Comparison of in vitro morphogenetic capacities of different clones of three local cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas*) from Togo. *African Journal of Biotechnology* 12(29).
- Gong Y., Gao F., Tang K. (2005)** – In vitro high frequency direct root shoot regeneration in Sweet potato using the ethylene inhibitor silver nitrate. *South African Journal of botany*. 71(1). 110-113
- Gura S. (1991)** – Sweet potato-No longer to be neglected. *Entwicklung und landlickerraun*.1:20-23.
- Hammond R. (2014)** – optimizing sterilization condition for the initiation of sweet potato culture in vitro, *asian journal of biotechnol*, 6 (2) ; 25-37, 2014
- Heller R. (1982)** – « Physiologie Végétale, tome 2 Développement » édition Masson, paris, pp.215.
- Huang C.P. (1982)** – Nutritive value of sweet potato, AVROC.
- Haung J.C. et Sun M. (2000)** – Genetic diversity and relationship of sweet potato and its wild relatives in *Ipomoea* series Batatas (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA, *Theor. Appl. Genet.* 100: 1050–1060.
- Huamán Z., Aguilar C. et Ortiz R. (1999)** – Selecting a Peruvian sweet potato core collection on the basis of morphological, eco-geographical, and disease and pest reaction data. *Theoretical and Applied Genetics* 98:840-845 *Genetic Resources and Crop Evolution* 41: 165-173.

- Iftekhar A. (2010)** – Effect of growth regulators on meristem culture and plantlet establishment in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.], *P.O.J.* 3(2):35-39
- Jarret R. L. et Austin D.F. (1994)** – Genetic diversity and systematic relationships in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and related species as revealed by RAPD analysis L.
- Janssens M.L.L. (2001)** – Sweet potato, Root and tubers. In Raemaekers RH (Ed) Crop production in Tropical Africa. Directorate General for International Cooperation (DGIC) pp 205-221
- Jones A. (1965)** – Cytological observations and fertility measurements of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) LAM). *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 86:527-537.
- Jones A. et Cuthbert F.P.J. (1973)** – Associated effects of mass selection for soil-insect resistances in sweet potato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 98: 480-482.
- Jones A. et Deonier M.T. (1965)** – Interspecific crosses among *Ipomoea lacunosa*, *I. ramosa*, *I. trichocarpa* and *I. triloba*. *Bot. Gaz.* 126: 226-232.
- Jones A. et Dukes P.D. (1980)** – Heritabilities of sweet potato resistance to root knot caused by *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*., *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 105: 154-156. 128
- Kamal M., Rahman M., Haque M. (2015)** – Effect of Growth Regulator on Regeneration of Sweet
- Kbiach M.L., Lamart A., Abdali A., Badoc A. (2002)** – Culture *in vitro* des bourgeons axillaires de chêne-liège (*Quercus suber*). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 141: 73-78.
- Loebenstein G., Fuentes S., Cohen J. and Salzar L.F. (2003)** – Sweet potato virus and diseases of major crops in developing countries, Kluwer. Academy Publishers, Dordrecht, *The Netherlands*. 223-248
- Lê C. L. (1994)** – Apport de l'électrophorèse dans l'identification des variétés de pommes de terre cultivées en Suisse. *Revue Suisse d'Agriculture*, 26, 373–379.
- Lepoivre P. (2003)** – Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des patho-systèmes et fondements des stratégies de lutte, De Boeck et Presses Agronomiques de Gembloux
- Liu Q.C., Zhai, H., Wang, Y. and Zhang, D.P. (2001)** – Efficient plant regeneration from embryonic suspension cultures of sweet potato. *In Vitro Cell Developmental Biology-Plant* 37:564–567.
- Loach K. (1985)** – Rooting of cuttings in relation to the medium. Combine proceeding of the International propagation Society 35:472-485.
- Malaurie B., Pungu O. & Trouslot M.F. (1995)** – Effect of growth regulators concentrations on morphological development of meristem tips in *Dioscorea cayenensis*-*D. rotundata* complex and *D. praeheensis*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult. In press*
- Mapongmetsem P.M., Duguma B., Nkongmeneck B.A. (1998)** – Domestication of *Ricinodendron heudelotii* (Baill). in the humid lowlands of Cameroon. Actes du deuxième séminaire international sur la valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, Ngaoundéré, Cameroun.
- Mapongmetsem P.M. (2012)** – Domestication de *Vitex doniana* Sweet. (Verbenaceae): influence du type de substrat, de la stimulation hormonale, de la surface foliaire et de la position du noeud sur l'enracinement des boutures uninodales, *Journal of Agriculture and Environment for International Development* – JAEID, 106 (1): 23 - 45
- Manrique T. S., Díaz D., Reano R., Ghislain M., Kreuze J. (2013)** – Sweet potato plant regeneration via an improved somatic embryogenesis protocol. *Scientia Horticulturae* 161, 95–100.
- Marico A. (2016)** – Mise au point d'un protocole d'acclimatation de vitroplants de manioc, Memoire de master publié Novembre 2016 Université Cheikh Anta diop de Dakar.
- Martin F.W. (1970)** – Self and interspecific incompatibility in the convolvulaceae. *Bot. Gaz.* 131:139-144.
- Martin F.W. et Jones A. (1971)** – Flowering and fertility changes in six generations of open pollinated sweet potato. *Amer. J. Hort. Sci.* 96: 493-495.
- Margara J. (1989)** – Bases de la multiplication végétative, les méristèmes et l'organogenèse, *INRA de versailles*, 262p
- Margara J. (1982)** – Bases de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogenèse. *INRA*, 262
- Moyer W. J. (1982)** – Le traitement des maladies Post-Récolte des patates douces. La patate douce: actes du premier symposium international : 189-197.
- Mervat M.M., El Far K., Mangoury E. et Elazab, H.E.M. (2009)** – Novel Plant Regeneration for Egyptian Sweet potato (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam.) Abees Cultivar via Indirect Organogenesis

- Stimulated by Initiation Medium and Cytokinin Effects. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 543-551.
- Michaux F. N., Grout H., Carron M. P. (1992)** – Origin and ontogenesis of somatic embryos in *Hevea brasiliensis* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany*, 174–180.
- Miller C.O., Skoog F. (1957)** – Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 11: 118-130.
- Murashige T. et Skoog F. (1962)** – A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15: 473-497.
- Ndoumou D.O., Fotso, Oumar, Mbouna. (2004)** – Propagation d'*Irvingia gabonensis* par microbouturage *in vitro*. *Fruits*, 59: 31– 38.
- Ochette C. (2005)** – Growth, quality and biotechnology, *W.F.P. publisher. finland*
- Ondo O. P., Kevers C., Dommes J. (2007)** – Axillary proliferation and tuberisation of *Dioscorea cayenensis-D. rotundata* complex. *Plant Cell. Tiss. Organ. Cult.*, 91: 107-114.
- Ozturk M. et Atar, H.H. (2004)** – *In vitro* micropropagation of the aquarium plant *Ludwigia repens*. *As. Pac J. Mol. Biol. Biotechnol.* 12:21-25.
- Placide R., Shimelis, H., Laing, M., Gahakwa, D. (2013)** – Physiological mechanisms and conventional breeding of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) to drought- tolerance. *African journal of Biotechnology*, 8(18):1837-1846.
- Rabotovao A.S. (2004)** – Mise au point de protocoles expérimentaux pour la germination et la régénération *in vitro* de *Kalanchoe synsepala* (Baker), Mémoire Université D'Antananarivo, 101 p.
- Razdan M.K. (1993)** – Introduction to plant tissue culture, Oxford and IBH Publishing *Compagny pvt, Ltd*, new delhi, india, ISBN : 8120407830, pp : 32-36
- Ram C. J. et Kailash C. S. (2011)** – Endogenous microbial contamination during *In vitro* culture of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam]: identification and prevention *Journal of Agricultural Technology* Vol. 7(6): 1725-1731
- Romano A., Noronha C., Martins-Loução M.A. (1992)** – Influence of growth regulators on shoot proliferation in *Quercus suber* L. *Ann. Bot.* 70 (6): 531-536.
- Rapport annuel INERA – Mulungu, 2004
- Romuald D. et Anna O. (2013)** – Micro propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.)Lam) from node explants. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 12 (4). 117-127
- Saadi A. (1991)** – Régénération de plantes de pois (*Pisum sativum* L.) par embryogenèse somatique, Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon.
- SAED, ISRA, ITA, FICHE TECHNIQUE** la production de patate douce dans la vallée du fleuve Sénégal, 2009
- Saidi F. (2009)** – Essais de multiplication *in vitro* par organogenèse direct d'une plante médicinale *Aristolochia Longa* L. *Agricultura – Știință și practică* nr. 3-4 (71-72)
- Salazar L.F. et Fuentes S. (2001)** – Current knowledge on major virus diseases of sweet potatoes. In: Proc. Int. Workshop Sweet potato Cultivar Decline Study. Y. Nakazawa and K. Ishiguro, eds. Kyushu Nat. Agric. Exp. Stn. Miyakonojo, Japan: 14-19
- Sané D. (1998)** – Étude des facteurs physiologiques et cytogénétiques de l'embryogenèse somatique chez *Acacia nilotica* (L.) [willd. ex] Del. ssp. *Tomentosa* Brenan, *Acacia nilotica* (L.) [willd. ex] Del. ssp. *adstringens* Brenan et *Acacia tortilis* (Forsk.) Haynespp. *raddiana* (Savi.) Brenan. Thèse de Doctorat de 3^{ème} cycle de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta DIOP de Dakar, Sénégal, 150p.
- Sané D. (2007)** – Régénération, à partir de suspensions cellulaires embryogènes, de cultivars de palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera* L.) pour leur adaptation aux conditions édapho climatiques du Sahel, Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles, Université Cheikh Anta DIOP de Dakar, Sénégal, 206 p.
- Sané D., Alberlenc- Bertossi F., Daher A., Borgel A., Duval Y. (2006)** – Aptitude à la déshydratation des embryons zygotiques de palmier à huile et de palmier dattier : étude de l'expression de gènes *LEA*, 401-413.
- Semal J. (1998)** – Reproduire à l'identique : In : *Mythe et réalité, Cahier Agriculture*, 6–8
- Shimada T. et Otani M. (2007)** – IV.3 *Sweet Potato*. Biotechnology in Agriculture and Forestry: 59 Transgenic Crops IV (ed. by E.C. Pua and M.R. Davey) © Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 337-353.
- Skoog F., Miller C.O. (1957)** – *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 11, 118

- Srisuwan S., Sihachakr D., et Siljak-Yakovlev S. (2006)** – The origin and evolution of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam.) and its wild relatives through the cytogenetic approaches. *Plant Sci* 171: 424-433.
- Stathers T., McEwan, M., Gibson, R., Mwanga, R., Carey, E., Namanda, S., Abidin, E., Low, J., Malinga, J., Agili, S., Andrade, M., Mkumbira, J. (2013)** – Tout ce que vous avez toujours voulu savoir à propos de la patate douce: Atteindre les agents du changement, manuel de formation des formateur (FdF) 3: Les systèmes semenciers de la patate douce. Centre International de la Pomme de Terre, Nairobi, Kenya. vol. 3.
- Talekar N.S. (1982)** – la recherche de sources de résistance au charançon de la patate douce. In: Villa real RL, Griggs TD (eds) Sweet potato. *Proc.Int.Symp. AVRDC* 1:157-166.
- Tchetche Y., Sallanon H., Coudret A., Isaka H. (2008)** – Modélisation des conditions d'environnement des bocal de culture *in vitro* : bocal avec agar et vitroplants. *Afrique Science, Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 4 (Ghomari S, 2015), 154-156.
- Thiam A. (2017)** – Aptitude à la régénération par organogénèse directe et à la callogénèse chez l'oignon (*Allium cepa* L.) var « Violet de Galmi ».Mémoire de Master Biovem, Université Cheikh Anta Diop De Dakar Faculte Des Sciences Et Techniques,
- Todjro G.H.C. (2012)** – Effets de différentes combinaisons hormonales sur l'organogénèse *in vitro* de quelques cultivars locaux et variétés améliorées de *Manihot esculenta* Crantz (manioc-Euphorbiaceae) cultivées au Bénin, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(4): 1593-1607,
- Triqui Z.E.A. (2009)** – Contribution à l'amélioration de la patate douce (*Ipomoea batatas*, (Lam)) par application des biotechnologies : Embryogénèse somatique et transformation génétique. Thèse de Doctorat d'Etat Université Mohammed V-Agdal, Faculté des Sciences, Rabat 143p
- Vernier D.V. (1994)** – Agriculture et développement n° 3 - P. CIRAD-CA, BP 2671
- Vidalis H., Augré R., Beauchesne G. (1989)** – La culture *in vitro* et ses applications horticoles. *Lavoisier, Tec et Doc (ed)*. 7- 24.
- Xiansong Y. (2010)** – Rapid production of virus-free plantlets by shoot tip culture *in vitro* of purple-colored sweet potato (*Ipomoea batatas* (L) Lam.). *Pak. J. Bot*, 42(3): 2069-2075
- Zok S. (1998)** – Culture *in vitro* et multiplication rapide de plantes à tubercule et racine au Cameroun, *Cahier agricultures* ; 7 : 63-6

Webographie

- <https://cipotato.org>
- https://www.researchgate.net/publication/308748332_la_culture_in_vitro_astuces_et_pratique
- <http://cultureinvitro.e-monsite.com/pages/iii-interets-pour-l-homme/quels-sont-les-interets-en-recherche-et-en-agriculture.html#Z1qWWO68rp0lXxM6.99>
- <http://www.africmemoire.c2om/part.2-chap1---la-revue-de-la-litterature-sur-la-patate-douce-notions-theoriques-et-empiriques-671.html>

Annexes

Annexe: 1: Composition minérale du milieu de culture de Murashige et Skoog (1962)

Vitamines	(pour 100ml) en mg
Acide nicotinique	50
Pyroxine HCl	50
Thiamine HCl	10
Glycine	200
Myo-inositol	
Micro-éléments	(Pour 200ml) en mg
H ₃ BO ₃	1240
Mn SO ₄ , 4H ₂ O	4460
ZnSO ₄ , 4H ₂ O	1720
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	50
CuSO ₄ , 5H ₂ O	5
CoCl ₂ , 6H ₂ O	5
KI	166
Macro-éléments	(Pour 1L) en g/L
NH ₄ NO ₃	33
KNO ₃	38
MgSO ₄ , 7H ₂ O	7,4
KH ₂ PO ₄	3,4
CaCl ₂ , 2H ₂ O	8,8
Fer chélate	(Pour 1L) en g/L
Na ₂ , EDTA	7460
FeSO ₄ , 7H ₂ O	5560
Solution MS0	Pour 1L
macro-éléments	50 ml
micro-éléments	1ml
vitamines	1ml
Fer chélate	5ml
Myo-inositol	100mg
Saccharose	20g
Agar	8g
PH 5,7	

Annexe: 2 Composition du terreau

Tourbe de sphagne blonde, Tourbe de sphagne noir, Argile, Perlite, Coco fibre – poussier, Ecorce, Sable, Vermiculite, Liège, Compost, Fibre d bois



Sac de terreau stérile

Annexe 3 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les différentes concentrations de kinétine (Fisher (LSD)) sur les 3 variétés Boly, Dina et Beau regard

Longueur tige

Modalité Variété Boly	Moyennes estimées	Groupes
2	4,513	a
1,5	4,313	a
2,5	4,163	a
3	3,646	ab
1	3,313	ab
0	2,063	b

Modalité Variété Beau regard	Moyennes estimées	Groupes
3	3,928	a
1,5	3,839	a
2	3,651	a
2,5	3,589	ab
1	3,376	ab
0	2,038	b

Modalité Variété Dina	Moyennes estimées	Groupes
1	2,524	a
2	2,486	ab
1,5	2,438	ab
2,5	2,063	bc
3	1,837	c
0	1,813	c

Nombre de nœuds

Modalité Variété Boly	Moyennes estimées	Groupes
2	11,125	a
3	10,144	a
1,5	10,125	a
2,5	10,000	a
1	9,125	a
0	4,375	b

Modalité Variété Dina	Moyennes estimées	Groupes
-----------------------	-------------------	---------

2	4,494	a
1,5	4,375	a
0	4,250	a
1	3,997	a
2,5	3,375	a
3	3,372	a

Modalité Variété Beau regard	Moyennes estimées	Groupes
1,5	9,538	a
2	8,913	ab
2,5	8,788	ab
3	8,450	ab
1	7,788	b
0	5,125	c

Développement racinaire

Modalité Variété Boly	Moyennes estimées	Groupes
1,5	2,750	a
0	2,750	a
3	2,689	a
2	2,375	a
2,5	2,375	a
1	2,125	a

Modalité Variété Dina	Moyennes estimées	Groupes
2	4,989	a
3	4,744	a
1	4,244	a
1,5	4,000	a
2,5	3,750	a
0	2,000	b

Modalité Variété Beau regard	Moyennes estimées	Groupes
1,5	3,612	a
1	3,237	a
2,5	2,987	a
2	2,983	a
3	2,974	a

0	2,000	b
---	-------	---

Annexe 4 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour nombre de nœuds (Fisher (LSD)) sur l'ensemble des substrats à 30 jours :

Longueur tige

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
2	5,244	a
1	3,106	b

Nombre de feuilles

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
2	6,050	a
1	4,463	a

Annexe 5 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Substrat*nombre de nœuds Newman-Keuls (SNK)) à 60 jours:

Longueur tige

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
Substrat-TS25*nombre de nœuds-1	42,333	a
Substrat-TS25*nombre de nœuds-2	37,833	a
Substrat-TS50*nombre de nœuds-1	30,500	a
Substrat-TS50*nombre de nœuds-2	36,917	a
Substrat-T100*nombre de nœuds-1	31,083	a
Substrat-T100*nombre de nœuds-2	27,250	ab
Substrat-TS75*nombre de nœuds-1	17,250	ab
Substrat-TS75*nombre de nœuds-2	25,750	ab
Substrat-S100*nombre de nœuds-1	0,000	b
Substrat-S100*nombre de nœuds-2	0,000	b

Nombre de feuilles

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
Substrat-TS25*nombre de nœuds-1	16,750	a
Substrat-TS25*nombre de nœuds-2	16,083	a
Substrat-TS75*nombre de nœuds-1	11,750	ab
Substrat-TS75*nombre de nœuds-2	14,917	ab
Substrat-TS50*nombre de nœuds-1	9,167	ab
Substrat-TS50*nombre de nœuds-2	13,833	ab
Substrat-T100*nombre de nœuds-1	10,500	ab
Substrat-T100*nombre de nœuds-2	11,750	ab
Substrat-S100*nombre de nœuds-1	0,000	b
Substrat-S100*nombre de nœuds-2	0,000	b

