



Journal Homepage: [-www.journalijar.com](http://www.journalijar.com)

INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH (IJAR)

Article DOI:10.21474/IJAR01/15270
DOI URL: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/15270>



RESEARCH ARTICLE

ORGANOGENESE *IN VITRO* DES FRAGMENTS DE TUBERCULES DE POMME DE TERRE (*SOLANUM TUBEROSUM* L. VAR. AÏDA) CULTIVES DANS LE DEPARTEMENT DES PLATEAUX (REPUBLIQUE DU CONGO)

Joseph Mpika, Channele Bertille Mvoumbi Tété, Chrichina Mbon Nguékou, Blaise Pascal Ngondo, Laurine Valérie Mboutol-Mandavo and Attibayéba
Laboratoire De Biotechnologie Et Production Végétales/Faculté Des Sciences Et Techniques/Université Marien Nguabi.

Manuscript Info

Manuscript History

Received: 27 June 2022
Final Accepted: 30 July 2022
Published: August 2022

Key words:-

Congo, Microcuttings, Microtubers,
Potato, Vitroplants

Abstract

The production of potatoes rich in starch and essential nutrients does not cover the needs of Congolese consumers. This is due to strong genetic erosion and the absence of high-performance local varieties as well as the unavailability of seeds for new plantations. The seed produced by traditional techniques does not meet the demand of producers. This study aims to produce seed potatoes by the technique of *in vitro* culture. Tubers disinfected with 10% sodium hypochlorite are kept at 4°C for 20 days to produce microtubers by bud burst; others are placed in heat therapy conditions to produce micro-cuttings. Microtubers and microcuttings are taken, then cultured *in vitro* on Murashige and Skoog medium on the one hand and on Murashige and Skoog medium to which 0.05 mg/ml of indolylbutyric acid is added on the other hand. The cold favors the bud burst of the potato tubers after a week. On vitroplants from microtubers developing on Murashige and Skoog medium to which 0.05 mg / ml of indolylbutyric acid is added, 5 roots, 6 leaves and a stem with a height of 6.05 cm are recorded. On the medium of Murashige and Skoog, we observe 3 roots, 7 leaves and a stem 5.69 cm in height. Regarding micropropagation, the results obtained showed that growth hormone plays an important role in the different stages of regeneration compared to the medium without phytohormone.

Copy Right, IJAR, 2022.. All rights reserved.

Introduction:-

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L) est cultivée pour ses tubercules très riches en amidon et en nutriments indispensables pour l'alimentation humaine et animale. Selon Alloy(2009), la pomme de terre occupe une place très importante dans l'alimentation humaine. Sa consommation dépasse les 35 Kg par personne et par an, primeurs comprises, auxquels s'ajoutent en moyenne plus de 25 Kg sous forme de produits transformés (chips, frites, poudres et flocons destinés à la préparation de purées ou de potage). Elle est cultivée dans plusieurs pays avec une production annuelle de 374,4 millions de tonnes en 2011 (FAOSTAT, 2013). Les pays d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, comptent parmi les cinq premiers producteurs mondiaux avec plus de 80% de la production. En effet, la production agricole se heurte aux problèmes de disponibilité des semences de qualité, de coûts élevés des semences. Au Congo, la production de pomme de terre ne satisfait pas les besoins des consommateurs, ce qui rend ce pays dépendant de l'étranger surtout en matière de semences. Cette culture est pratiquée depuis l'époque coloniale.

Corresponding Author:- Joseph Mpika

Address:- Laboratoire De Biotechnologie Et Production Végétales/Faculté Des Sciences Et Techniques/Université Marien Nguabi.

Son introduction a été faite en 1940 par l'administration coloniale. Les premières productions ont été réalisées dans la région des plateaux de Nsah et Koukouya. Jusqu'aujourd'hui la culture de la pomme de terre est restée essentiellement localisée dans le Département des plateaux (Mabanza et al., 1998). La pomme de terre est une culture vivrière et cultivée dans les localités de Lékana et Djambala du département de plateaux. Jusqu'en 1990, la production de la pomme de terre en moyenne était de 300 tonnes par an d'après le Ministère de l'Agriculture et de l'Élevage. A ce jour, cette production n'est presque plus chiffrée, sa courbe étant descendante. Cette faible production est due à une forte érosion génétique des variétés locales existantes, l'absence des variétés performantes adaptées aux conditions agropédoclimatiques et surtout l'indisponibilité des semences pour les nouvelles plantations. Ainsi, la faible production est compensée par les importations extérieures, les prix de ventes restent relativement élevés pour les consommateurs (Mabanza et al., 1998). Pour le matériel végétal encore existants, le taux de multiplication n'est pas suffisant pour produire à court terme des quantités de semences nécessaires ou pour éventuellement mettre en place un programme semencier afin de faire face aux besoins de semences de qualité. Ceci, permet évidemment d'expliquer l'insuffisance plus ou moins marquée des statistiques sur cette culture et sa représentativité à travers le pays. Il est donc impérieux, à travers les techniques de cultures des tissus *in vitro*, de chercher à résoudre l'épineux problème de la disponibilité des semences, et faire de la pomme de terre, dans les temps à venir un autre aliment de base à coût modéré. Dans ce contexte, mettre en place la régénération de plants, pour constituer rapidement un stock de matériel de qualité sanitaire devient une nécessité absolue, ce qui permettrait d'atteindre un nombre extrêmement important d'individus. A cet effet, la variété aïda originaire d'Amérique latine, a été introduite au Congo par l'administration coloniale. Cette variété aïda est plus cultivée dans le département des plateaux.

Notre étude porte sur la morphogénèse *in vitro* des fragments de tubercules de pomme de terre, en vue d'améliorer l'état sanitaire, la qualité et la productivité de la variété aïda et à terme obtenir un grand nombre de copies rigoureusement conformes par régénération à partir des explants des microtubercules et des microboutures.

Matériel Et Méthodes:-

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des tubercules de la pomme de terre de la variété aïda. Cette variété est largement diffusée dans les principales localités productrices de la pomme de terre du département du plateau. Elle est caractérisée par un tégument de couleur jaune, avec des oeillets légèrement enfoncés; la pulpe est blanchâtre. On y rencontre deux grands types: le type oblong de forme plus ou moins allongée et le type arrondi, souvent bosselé.

Désinfection et mise en culture des microtubercules et des micro-boutures

Les tubercules de pomme de terre sont d'abord soigneusement lavés avec l'eau du robinet. Ils sont ensuite désinfectés avec une solution d'hypochlorite de sodium. Puis, ils sont rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile à des intervalles de 10 minutes. Ceux-ci sont placés au réfrigérateur à une température comprise entre 4-5°C pendant 20 jours pour favoriser le débourrement et obtenir les microtubercules. Les tubercules pré-germés sont par la suite incubés dans une étuve à thérapie pendant 2 semaines dans un substrat contenant de la terre noire stérilisée à l'autoclave pendant 1h à une température de 120°C. L'étuve est maintenue à une température comprise entre 36-37°C. Les micro-boutures sont obtenues par segmentation des tiges aériennes préalablement traitées à la thérapie.

Pour l'ensemencement *in vitro*, les explants sont constitués des microtubercules issus du débourrement des tubercules de pomme de terre au froid et des micro-boutures obtenus par incubation des tubercules pré-germés par thérapie. Pour satisfaire aux exigences des conditions rigoureuses d'asepsie de la culture *in vitro*, il est fait une gamme de concentrations en hypochlorite de sodium, additionné de quelques gouttes de tween 20. Puis, il est établie une gamme de temps nécessaire pour obtenir une bonne désinfection (tableau I).

Tableau 1:- Gamme de concentrations de l'hypochlorite de sodium et de temps pour la désinfection des explants de pomme de terre

Concentration du désinfectant	Temps de trempage en minute			
hypochlorite de sodium à 5% + 5 gouttes tween 20	5 min	10 min	15 min	20 min
hypochlorite de sodium à 10% + 5 gouttes tween 20	5 min	10 min	15 min	20 min
hypochlorite de sodium 20% + 5 gouttes tween 20	5 min	10 min	15 min	20 min

Les microtubercules et les micro-boutures sont désinfectés sous la hotte laminaire à flux stérile. Après désinfection, ces explants sont rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile à des intervalles de 5 minutes chacun. Après rinçage, les explants sont prêts à être ensemencés sur milieu MS (Murashige et Skoog, 1962) et sur milieu M1AIB (milieu MS + 0,05 mg /ml Acide indole butyrique). Le Milieu MS est composé de microéléments, de macroéléments, de fer et de vitamines. Il contient en outre, le saccharose de 30mg/l, le myo-inositol de 0,1mg/l et l'agar-agar de 5g/l. Le milieu M1AIB est constitué de Milieu MS auquel on adjoint 0,05 mg /ml d'acide indole butyrique (AIB). Après dissolution complète des éléments constitutifs de ce milieu, celui-ci est reparti dans des tubes à essai, puis autoclavé pendant 15 minutes à une température de 120°C, sous une pression de 1bar. La culture des explants est réalisée dans des tubes à essai de 24mm de diamètre et 150mm de longueur. Ces tubes sont fermés avec des bouchons en plastique.

Pour l'ensemencement des microtubercules et des microboutures sur les milieux de culture, les explants sont sectionnés à l'aide d'un scalpel, en prenant soin d'éliminer les deux extrémités de la tige affectées par le désinfectant. Ce sont les portions des explants de 0,5 à 1cm comportant un nœud qui sont ensemencés. Après ensemencement, les tubes contenant les explants sont transférés dans la chambre de culture dans les conditions suivantes :

1. Photopériode de jours longs : photophase de 16 h (LD16 :8)
2. Température : 28 à 30 °C
3. Eclairage : 52,5 $\mu\text{moles s}^{-1} \text{m}^{-2}$
4. Humidité : 70 %

L'éclairage est fourni par des tubes fluorescents PHILIPS TL-D 36w/54-765, Ingelec 36w6500, Emkay FL 36w6500 et MAZDA TF 36w LJ. L'éclairage est mesuré à l'aide d'un luxmètre. La conversion des lux en $\mu\text{moles s}^{-1} \text{m}^{-2}$ est faite selon Sharakshane (2018).

Collecte et analyse statistique des données

Sur les microtubercules et microboutures, les observations portent sur l'enracinement, le dégageage foliaire et la croissance de la tige. Le décompte des racines est effectué sur 10 tubes par milieu de culture à l'intervalle de 5 jours. A cet intervalle, les feuilles sont dénombrées et la hauteur de la tige mesurée à l'aide d'un pied à coulisse. Le logiciel SPSS version 2021.6 est utilisé pour toutes les analyses statistiques. Pour l'enracinement, l'émission foliaire et la croissance de la tige, les analyses de variance (ANOVA) ont porté sur le nombre moyen des racines, des feuilles émises et la hauteur de la tige sur l'explant. La normalité des résiduels et l'homogénéité des variances sont vérifiées. Les comparaisons entre les moyennes sont faites selon le test de Student Newman et Keuls au seuil de 5 %.

Résultats:-

Influence du milieu MS et M1AIB sur les microtubercules

Aucune racine ne s'est formée sur les vitroplants issus des microtubercules cultivés sur le milieu MS pendant toute la durée de l'expérimentation (Figure 1). Cependant celles-ci apparaissent sur les vitroplants issus des microtubercules cultivés sur le milieu M1AIB. En effet, il s'est différencié en moyenne 1, 3, 4, 5 racines respectivement au 5^e, 10^e, 15^e et 20^e jour de développement *in vitro* des plants issus des micro tubercules cultivés sur le milieu M1AIB. Concernant la différenciation des feuilles, la figure 2 montre qu'il y a eu formation des feuilles sur tous les vitroplants issus des microtubercules cultivés aussi bien sur milieu MS que sur milieu M1AIB. On remarque en outre que le milieu M1AIB est le plus favorable à la prolifération foliaire que le milieu MS. En effet, du 5^e au 20^e jour de développement *in vitro* sur milieu MS, il ne s'est différencié en moyenne que 2 feuilles, alors que sur milieu M1AIB, dès le 5^e jour, il s'est déjà différencié 2 feuilles sur les vitroplants. Cette différenciation se poursuit régulièrement pour obtenir environ 6 feuilles au 20^e jour. Quant à l'allongement des tiges, et comme pour le cas précédent, c'est le milieu M1AIB qui est le plus favorable à l'allongement des tiges par rapport au milieu MS comme le montre la figure 3. En effet, sur le milieu MS, du 5^e au 20^e jour, la tige ne dépasse pas 3 cm de hauteur. Par contre, chez les vitroplants issus des microtubercules cultivés sur milieu M1AIB, leur hauteur passe en moyenne de 2,69 cm du 5^e jour à 6,3 cm au 20^e jour.

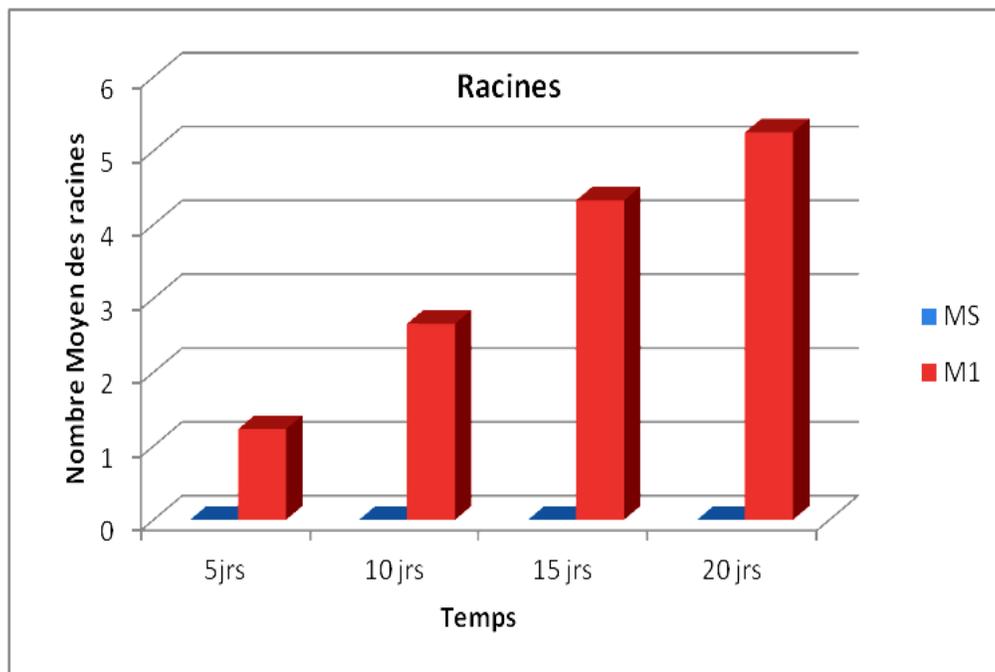


Fig. 1:- Différenciation des racines chez les vitroplantsissus des microtubercules de pomme de terre cultivés sur milieux MS et M1 (MS : milieu de Murashige et Skoog ; M1 : milieu MS+AIB).

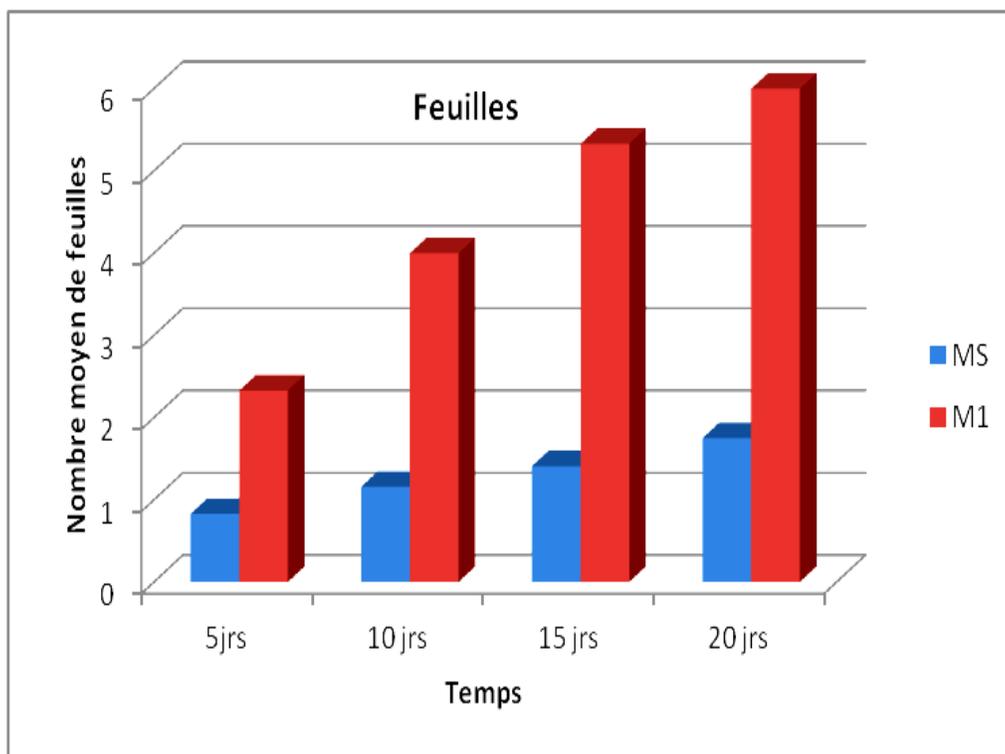


Fig. 2:- Différenciation des feuilles chez les vitroplants issus des microtubercules de pomme de terre cultivés sur milieux M1 et MS (MS : milieu de Murashige et Skoog ; M1 : milieuMS+AIB).

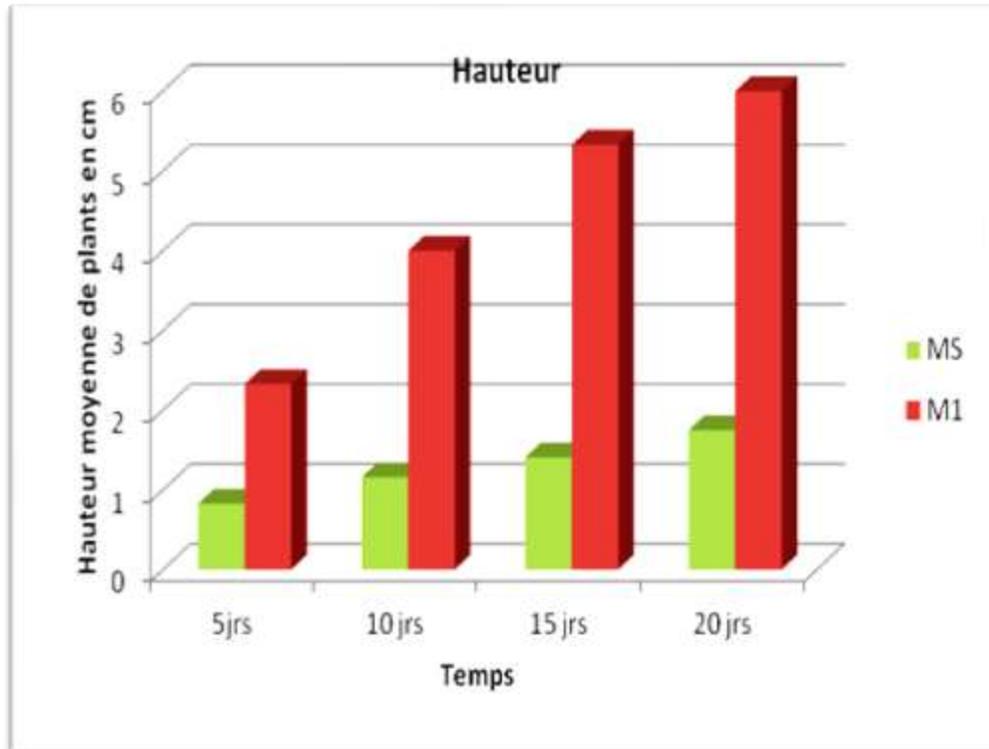


Fig. 3:- Allongement des tiges issues des microtubercules cultivés sur les milieux MS et M1 (MS : milieu de Murashige et Skoog ; M1 : milieu MS+AIB).

Les résultats des analyses statistiques montrent que la hauteur de la tige des vitroplants issus de microtubercules varie de manière significative (au seuil de 5%), en fonction du milieu de culture et la durée d'observation. Ce résultat révèle que l'utilisation du milieu M1AIB améliore significativement la hauteur de la tige (Tableau 2). L'effet plus marqué est noté au 20^e jour sur M1AIB (groupe c). L'analyse n'a révélé, au plan statistique, aucune différence significative (au seuil de 5%) du nombre moyen des racines sur le milieu de culture MS sauf pour le M1AIB. Aucune relation directe n'est établie entre le nombre des racines et le milieu MS sauf pour le nombre des racines sur le milieu de culture M1AIB. Pour le nombre des feuilles émises, les analyses de variance révèlent un effet milieu et durée d'observation significatif au seuil de 5% selon le test de Student Newman & Keuls et mettent en évidence l'existence de 5 groupes homogènes (a, ab, b, c et d). Le nombre des feuilles plus significatif est obtenu avec le milieu M1AIB au 20^e jour d'observation (groupe d).

Tableau 2:- Classification de la hauteur de la tige, du nombre de feuilles et du nombre de racines sur les plants issus de microtubercules de pomme de terre.

Temps (jour)	Milieu de culture	Hauteur de tige	Nombre des feuilles	Nombre des racines
5	MS	0,98a±1,84	0,83a±1,50	0a±0,44
10	MS	2,31a±3,17	1,16ab±1,83	0a±0,44
15	MS	2,60b±6,89	1,42ab±2,08	0a±0,44
20	MS	3,00b±3,86	1,75ab±2,41	0a±0,44
5	M1AIB	2,69b±3,55	2,37b±3,04	1,23b±1,67
10	M1AIB	3,27b±4,13	4,04c±4,71	2,67c±3,11
15	M1AIB	5,38c±3,46	5,33d±5,99	4,54d±4,98
20	M1AIB	6,05c±6,89	5,76d±6,41	5,04d±5,47

Influence du milieu MS et M1AIB sur les microboutures

Les racines se forment progressivement sur les vitroplants issus des micro-boutures cultivés aussi bien sur milieu MS que sur milieu M1AIB, du 5^e au 20^e jour de développement *in vitro* (Figure 4). On constate qu'au 20^e jour, les vitroplants issus des micro-boutures cultivés sur milieu M1AIB portent plus de racines (3 racines) que ceux issus des

micro-boutures cultivés sur milieu MS avec environ 2 racines. Il en est de même pour le dégageant foliaire où se sont les vitroplants issus des micro-boutures cultivées sur milieu M1AB qui portent 7 feuilles, alors que ceux issus des micro-boutures cultivés sur milieu MS ont environ 6 feuilles (Figure 5). En ce qui est de l'allongement des plants, que ce soit sur milieu MS que sur milieu M1AIB, du 5^e au 20^e jour, ceux-ci s'allongent régulièrement, passant de 1,75 cm à 4,84 cm (milieu MS) et de 2,86 cm à 5,69 cm (milieu M1AIB) comme le montre la figure 6.

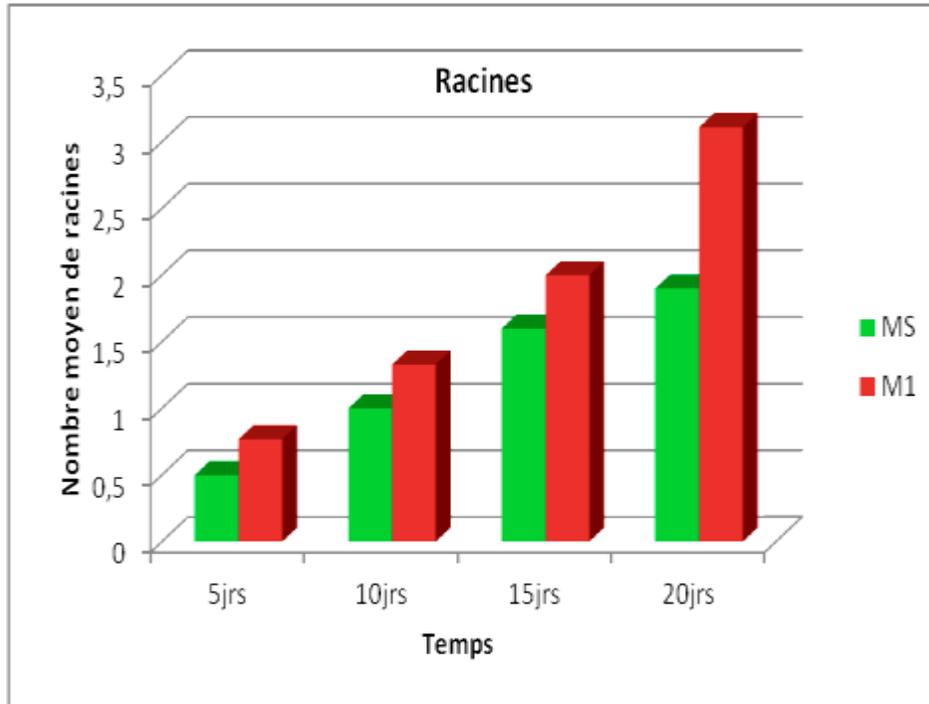


Fig. 4:- Différenciation des racines chez les vitroplants issus des micro-boutures de pomme de terre cultivés sur milieux MS et M1 (MS : milieu de Murashige et Skoog ; M1 : milieu MS+AIB).

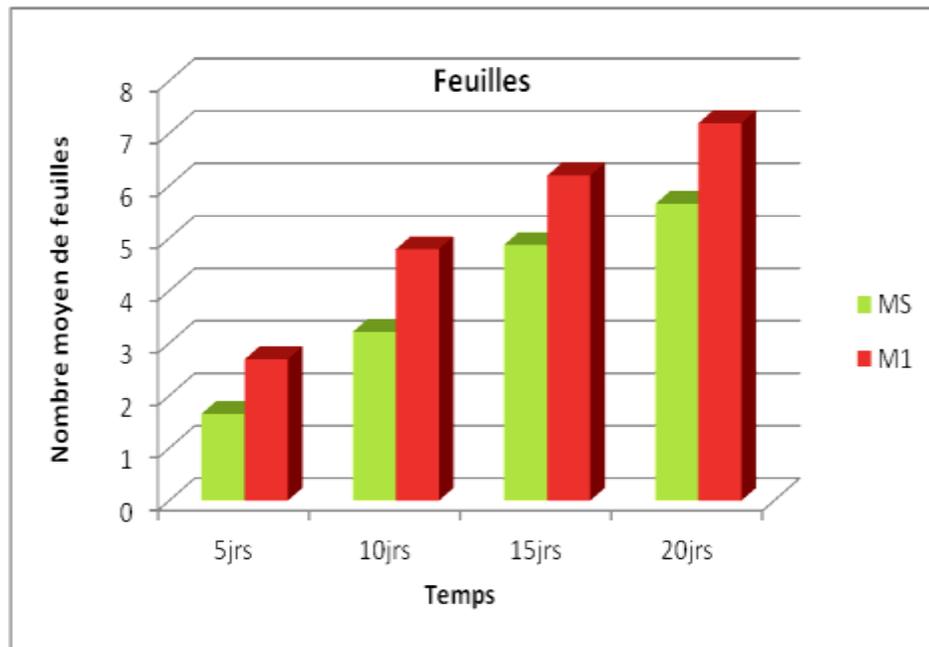


Fig. 5:- Différenciation des feuilles chez les vitroplants issus des micro-boutures de pomme de terre cultivés sur milieux MS et M1 (MS : milieu de Murashige et Skoog ; M1 : milieu MS+AIB).

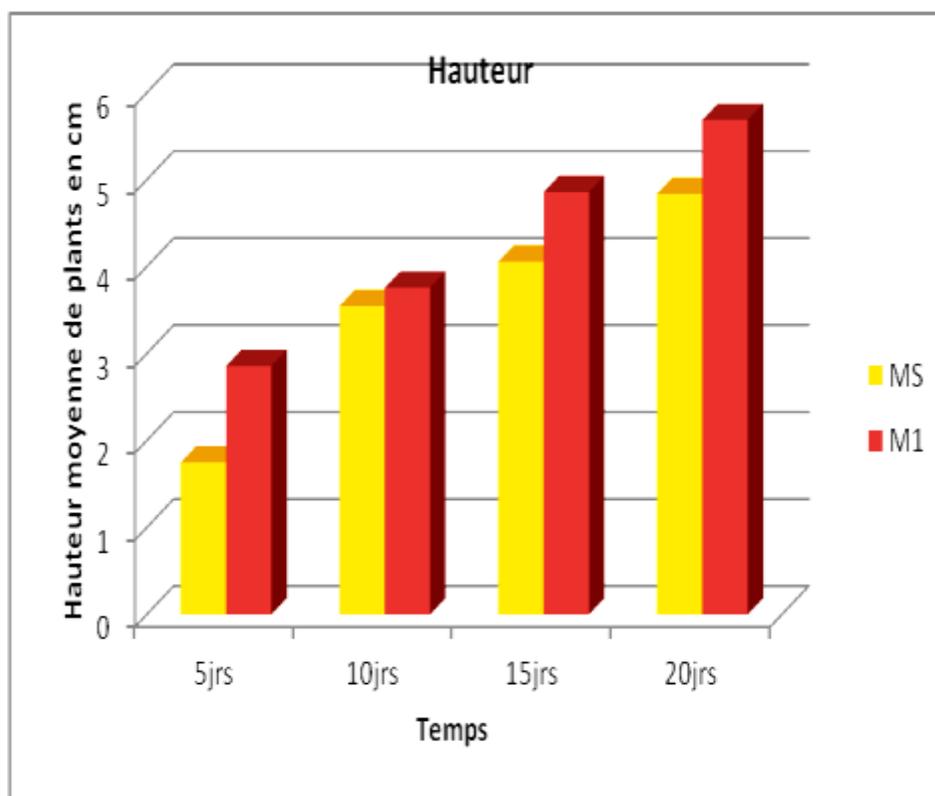


Fig. 6:- Allongement des tiges issues des micro-boutures cultivés sur milieux MS et M1 (MS: milieu de Murashige et Skoog ; M1 : milieu MS+AIB).

Les résultats des analyses statistiques montrent que la hauteur de la tige, le nombre des feuilles et le nombre des racines des vitroplants issus de microboutures varient de manière significative (au seuil de 5%), en fonction du milieu de culture et la durée d'observation. Ce résultat révèle que l'utilisation du milieu M1AIB améliore significativement toutes les variables à partir du 15^e jour d'observation (Tableau 3). Les analyses de variance révèlent un effet milieu et durée d'observation significatif au seuil de 5% selon le test de Student Newman & Keuls. Elles mettent en évidence l'existence de 7, 6 et 4 groupes homogènes respectivement à la hauteur de la tige, le nombre des feuilles émises et le nombre des racines. Pour ces trois variables, l'effet plus marqué est noté à partir du 15^e jour sur M1AIB. La hauteur de la tige de 5,69 cm plus significative est obtenue avec le milieu M1AIB au 20^e jour d'observation (groupe d). Sur ce milieu, il est observé 7 feuilles (groupe e) et 3 racines (groupe c) par vitroplant (Tableau 3).

Tableau 3:- Classification de la hauteur de la tige, du nombre de feuilles et du nombre de racines sur les vitroplants issus de microboutures de pomme de terre.

Temps (jour)	Milieu de culture	Hauteur de la tige (cm)	Nombre des feuilles	Nombre des racines
5	MS	1,75a±2,45	1,67a±2,31	0,60a±1,15
5	M1AIB	2,86b±3,56	2,71b±3,35	0,81a±1,36
10	MS	3,55bc±4,25	3,22b±3,87	1,00ab±1,55
10	M1AIB	3,76bc±4,46	4,80c±5,45	1,37ab±1,92
15	MS	4,14bcd±4,85	4,88c±5,53	1,60ab±2,15
20	MS	4,51cde±5,21	5,67cd±6,31	1,94b±2,49
15	M1AIB	5,13de±5,83	6,21d±6,85	2,00b±2,55
20	M1AIB	5,69d±6,39	7,21e±7,85	3,07c±3,62

Discussion:-

Cette étude a montré qu'une température comprise entre 4 et 5°C, impacte sur le débourrement des tubercules de pomme de terre à 20 jours de conservation. Cela a permis de raccourcir la durée de dormance des bourgeons apicaux. Nos résultats sont en accord avec les travaux d'Allen et al. (1978), Harkett (1981), Van Loon (1983) et Turnbull et Hanke (1985) qui ont montré également que la durée de la dormance des tubercules de pomme de terre diminue avec leur traitement par le froid. Les résultats obtenus sur la désinfection des explants montrent que la concentration en l'hypochlorite de sodium influe sur le développement des explants mis en culture. La désinfection du matériel végétal avant leur mise en culture est très délicate, car elle constitue l'étape primordiale de réussite du développement ultérieur des explants cultivés *in vitro*. Le désinfectant utilisé doit avoir un double effet: tout d'abord éviter l'infection due à la propagation des bactéries et des champignons et ensuite éviter le traumatisme des tissus qui pourrait conduire à leur nécrose et à la mort. Dans le cadre de cette étude, la nature de l'explant et la concentration du désinfectant et même la durée de la désinfection ont eu une influence sur la croissance des explants. Le faible taux de réussite et le phénomène de brunissement observé presque dans toutes les combinaisons indiquent qu'il est encore important de rechercher les meilleures combinaisons possibles pour la désinfection des explants de pomme de terre dans nos conditions de culture. En effet, le brunissement des explants inhibe le développement ultérieur des explants mis en culture *in vitro*. Les travaux d'Otabo (1993) sur la désinfection de *Manihot glaziovii* ainsi que les travaux de Saidi (2009) sur les essais de multiplication *in vitro* par organogénèse directe d'une plante médicinale *Aristolochia longa* L. signalent l'action défavorable des désinfectants à forte concentration sur le développement des plantes mis en culture.

Dans nos travaux, nous avons noté l'influence du milieu de culture sur développement des vitroplants. La régénération *in vitro* des vitroplants de pommes de terre à partir des microtubercules et des microboutures est possible comme nous l'avons prouvé. La différenciation racinaire n'était pas possible sur les plants issus des microtubercules cultivés sur milieu MS, bien que celui-ci favorise le développement quoique lent du vitroplant. Par contre, les racines se forment sur les vitroplants issus des micro-boutures cultivés sur milieu MS. Ces résultats concordent avec ceux de Mantsouaka (1986) qui avait signalé une difficulté de rhizogénèse sur le bouturage direct du mandarinier et du safoutier en culture *in vitro*; et aussi avec ceux de Mabanza (1980) qui avait remarqué un développement lent des boutures de manioc cultivées aussi sur milieu MS. Le milieu M1AIB, qui est le milieu de Murashige et Skoog (1962) auquel on a additionné de l'acide indolylbutyrique, favorise la régénération des vitroplants issus micro tubercules et des micro- boutures. En effet, ce milieu contenant une phytohormone particulière, influence l'élongation des tiges de manière plus marquée que le milieu MS sans phytohormone. Cela a été aussi prouvé par les travaux de Mabanza et Jonard (1981), Rodriguez (1995), Tonnang (1988) qui ont signalé l'influence du milieu sur le développement des micro-boutures mis en culture. En effet, les phytohormones jouent un rôle important dans la différenciation cellulaire et l'allongement des tiges (Lê 1997; Chaussat et Bigot, 1980).

Conclusion:-

Cette étude a montré que la technique d'organogénèse *in vitro* est un outil performant et puissant, capable de mettre à la disposition des utilisateurs des quantités importantes des semences de meilleure qualité phytosanitaire en un temps largement plus réduit. Elle permet de faire face au problème de semences de pomme de terre qui se pose avec acuité au Congo, problème à base des chutes de rendements observés sur le terrain. Au terme de l'étude, nous nous sommes appropriés les techniques de la culture *in vitro* pour produire les semences de la pomme de terre qualitativement et quantitativement. Le froid favorise le débourrement des tubercules de pomme de terre au bout d'une semaine de conservation. La régénération des vitroplants de la pomme de terre à partir des microtubercules et des micro-boutures cultivés sur le milieu de Murashige et Skoog contenant de l'acide indole butyrique est bonne comparativement au milieu sans hormone qui, bien qu'ayant produit des tiges, n'a pas différencié de racines sur celles-ci. Au cours de la régénération des microtubercules et des microboutures, le milieu M1 est celui qui est le plus favorable au développement des vitroplants qui sont d'ailleurs plus vigoureux, comparativement à ceux qui se sont développés sur milieu MS.

Références:-

1. Alloy, J.P. (2009) : La filière pomme de terre en champagne-Ardenne. Agreste champagne Ardenne N°9 .Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche. 6p.
2. Allen, E.J., Bean, J.N. and Griffith, R.L.(1978) :Effects of low temperature on sprout growth of several potato varieties. Potato Research, 21:249-255.
3. Chaussat, R. and Bigot, C. (1980) : La multiplication des plantes supérieures, paris, 270p.

4. FAOSTAT. (2013) :Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Rome, base de données FAOSTAT; Fonds monétaire international (FMI), Washington, D.C, base de données, Statistiques financières internationales, base de données; Division de Statistiques de Nations Unies, base de données du Bulletin mensuel de statistiques. http://www.fao.org/corp/google_result/fr/?cx=018170620143701104933%3A1nrxaehdysq&q=Pomme+de+terre+en+Alg%C3%A9rie&x.
5. Harkett, P.J. (1981): External factors affecting length of dormant period in potato. J.Sci.Food Agric., 34:102-103.
6. LÊ, C.L, Nowbuth, L., Hediger, S. and Collet, G.F. (1997) : Régénération de la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* L.).Revue suisse Agric. 29 (3) :143-150.
7. Mabanza, J. (1980) :Essai d'isolement de clones de manioc (*Manihot esculenta* CRANTZ) en vue d'isoler ultérieurement des clones résistants à la bactériose, DEA agronomie phytochimie. Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, 61P.
8. Mabanza, J. and Jonard, R. (1981): La multiplication des clones de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) à partir d'apex isolés *in vitro*. C.R. Acad. Sci. Paris, 292: 839-842.
9. Mabanza, J., D'almeida Samba A. and Otabo, F.R.(1998) : Les travaux sur la pomme de terre au CERAG, 1, 2, 3,4p.
10. Mantsouaka (1986): Difficulté de rhizogenèse sur le bouturage direct du mandarinier et du safoutier en culture *in vitro*. Mémoire d'ingénieur de Développement Rural. Brazzaville Congo.
11. Murashige, T. and Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. plant., 15 :473-497.
12. Otabo, F.R. (1993): Contribution à l'étude des espèces tropicales: multiplication *in vitro* du manihot glaziovii muell. Mémoire d'ingénieur de Développement Rural. Brazzaville Congo 58P.
13. Rodriguez, A.V. (1995) : Production de vitroplants sains de manioc : cas d'une variété de culture Congolaise (Moudouma). Agron. AFR. VII (2) : 24 : 1-6.
14. Saidi, F.H.S., Cherif, H., Metidji, A., Rouibia, C., Chaouia, M.S., Abdulhussain, R., Mohamed Said, Hamaidi, M.S.(2009) : Essais de multiplication *in vitro* par organogenèse directe d'une plante médicinale *Aristolochialonga*L. Département de Biologie Faculté des Sciences Agronomiques Vétérinaire et Biologique. Département d'Agronomie Université Saad Dahleb – Blida (Algérie) nr 3-4, 71-72.
15. Sharakshane,(2018): An easy estimate of the PFDD for a plant illuminated with white LEDs: 1000 lx = 15 $\mu\text{mol/s/m}^2$. Doi: <http://dx.doi.org/10.1101/289280>.
16. Tonnang, G.A.(1988): Production des vitroplants: Techniques et Perspectives d'avenir Mémoire d'ingénieur IDR, Brazzaville Congo 42p.
17. Tumbull, C.G.N. and Hanke, D.E.(1985):The control of bud dormancy in potato *Solanumtuberosum* cultivar majestic tubes: evidence for the primary role of cytokinins and a seasonal pattern of changing sensitivity to cytokinin. Planta, 165: 359-365.
18. Van Loon, C.D.(1983): The effect of a cold shock on dormancy of potatoes. Potato Research, 26, 81.