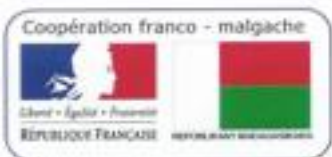
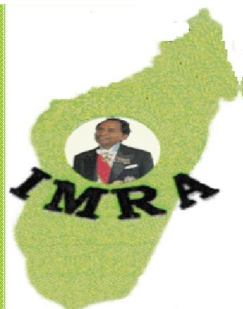


MULTIPLICATION CACAOYERE - MISE AU POINT DU PROCEDE DE LA CULTURE *IN VITRO*.



HARINARIVO Hoby Lalatiana



CONTEXTE

- Introduction de Cacaoyer de Madagascar vers 1900
- Criollo introduit en premier puis Forastero
- Criollo meilleur qualité mais sensible aux aléas ; Forastero qualité médiocre mais résistant aux maladies.
- Croisement entre 2 variétés donne Trinitario et meilleur sélection donne du cacao de meilleur qualité au monde (label Cacao fine)

Malgré la réputation :

- Production de Madagascar ne représente que 0,12% de la production mondiale
- Qualité régresse à cause de diffusion des plantules de plusieurs variétés (hybridation) et de la variabilité de procédé post-récolte utilisé

JUSTIFICATION

Le projet « Relance d'un programme d'amélioration et de pérennisation de la qualité du Cacao malgache par le biais de sélection de matériel végétal adéquat accompagnée de procédés pré- et post-récoltes appropriés. » financé par la Mission de coopération française (PARRUR)

Objectifs :

- fourniture aux producteurs des semences sélectionnées meilleure qualité et forte production
- L'embryogenèse somatique est un des déivrables pour atteindre ces objectifs.

Objectifs : Partie culture *in vitro*/embryogenèse somatique au laboratoire de l'IMRA et au laboratoire d'Ambanja.

RAPPEL SUR LA CULTURE *IN VITRO* ET EMBRYOGENESE SOMATIQUE

Culture *in vitro* : ensemble des méthodes faisant intervenir d'une part l'asepsie et d'autres part les conditions des cultures parfaitement contrôlées.

Objectifs de la culture *in vitro* : régénérer une plante entière à partir de cellules, de tissus végétaux ou d'organes.

Milieu de culture : présence des éléments dont la plante a besoin (minéraux, eau, sucre, acides aminés et hormones). Les hormones sont d'une grande importance.

Hormones : cytokinines et auxines nécessaires pour orienter la formation des organes.

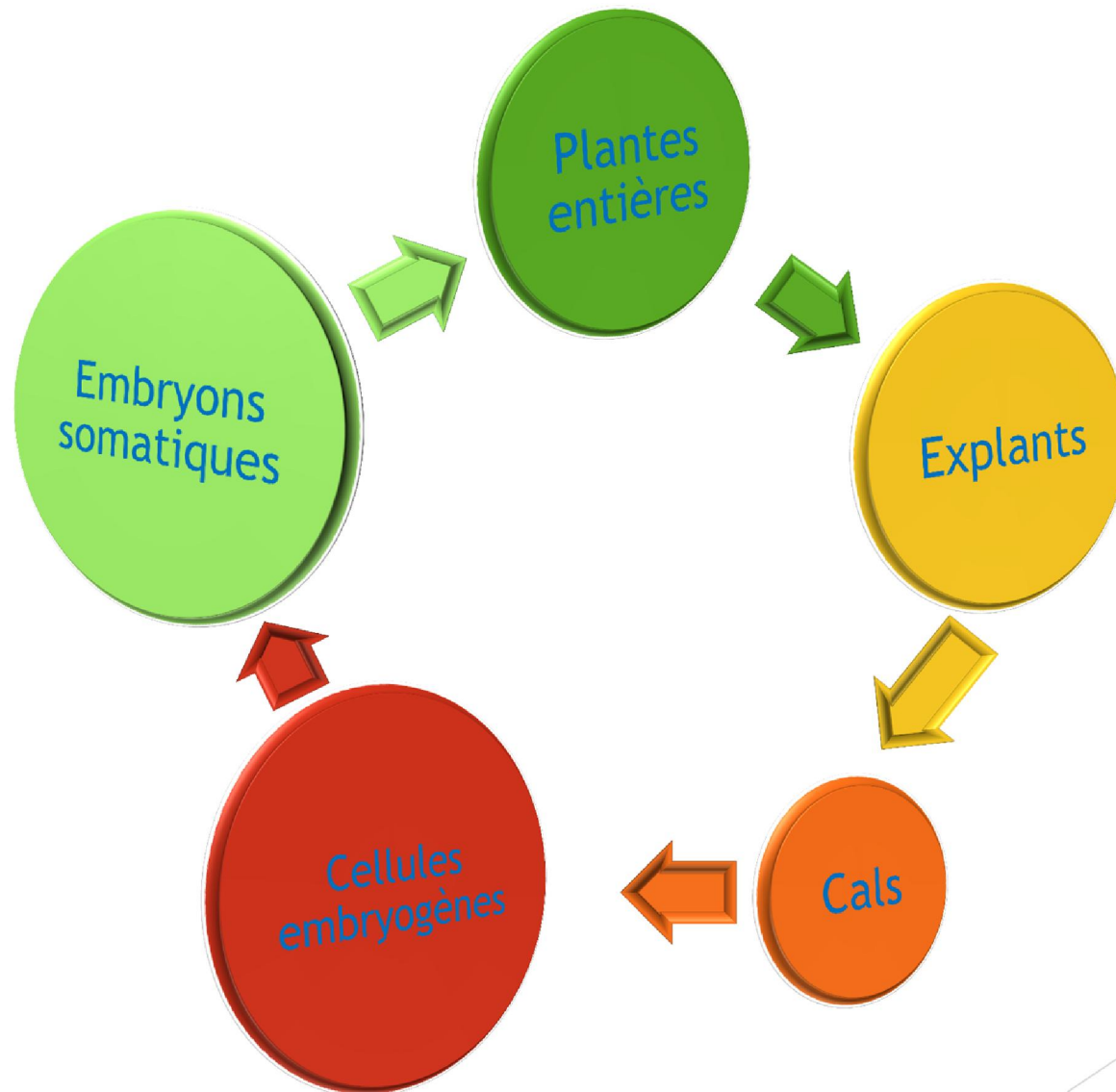
Cytokinine pour la division de méristèmes et le débourrement des bourgeons tandis qu'auxine pour la formation racinaire.

RAPPEL SUR LA CULTURE *IN VITRO* ET EMBRYOGENESE SOMATIQUE (suite)

Embryogenèse somatique : une des techniques de culture *in vitro* dont l'explant initial est un fragment d'organe.

Principe de l'embryogenèse somatique: obtenir à partir des explants des cellules indifférenciées (cals) puis cals donnent des cellules embryogènes et des embryons somatiques donnent finalement des plantes entières.

RAPPEL SUR LA CULTURE *IN VITRO* ET EMBRYOGENESE SOMATIQUE (suite)



➤ Mise au point de la culture *in vitro* et de l'embryogenèse somatique à l'IMRA

Mise au point de la culture aseptique: la germination *in vitro* des fèves est effectuée.

Technique de désinfection et milieu de culture utilisée: établie pendant les essais pré-projet.

Taxons utilisés: IFM 1, IFM 201, IFM 203, IFM 208, IFM 210, IFM 215 du verger de FOFIFA d'Ambanja.

- Mise au point de la culture *in vitro* et de l'embryogenèse somatique à l'IMRA (suite)

Germination *in vitro* des fèves fraîches de *Theobroma cacao*



Fèves fraîches
selectionnés

désinfection



Culture sur milieu de
germination

Transfert en salle
de culture



Culture dans la salle
de culture

- Les suivis de culture sont effectués tous les jours

- Mise au point de la culture *in vitro* et de l'embryogenèse somatique à l'IMRA (suite)

Embryogenèse somatique des fleurs et des feuilles à l'IMRA

- Technique de désinfection utilisée et milieu de culture: compilation de la bibliographie.
- Explants utilisés: boutons floraux venants d'Ambanja et feuilles stériles issues des graines germées.
- ✓ Remarque: feuilles issues des graines germées ne sont pas des explants idéaux mais c'était pour vérifier s'il y a callogenèse ou non!

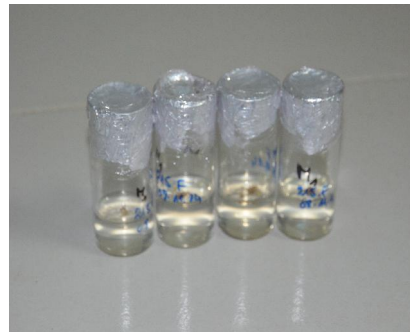
- Mise au point de la culture *in vitro* et de l'embryogenèse somatique à l'IMRA (suite)

Embryogenèse somatique des fleurs et des feuilles à l'IMRA (suite)



Explants

Désinfection



Culture sur milieu
+ phytohormones



Mise à l'obscurité des cultures



Suivi chaque jour

➤ Résultats de la germination et embryogenèse somatique à l'IMRA

. Germination

Taux de contamination	5 à 8%
Taux de germination	65 à 90%

✓ Les essais pré-projets ont permis d'avoir une avancée dans la réalisation du projet

Jours de culture	1 semaine après culture	3 semaines après culture
Introduction des graines dans le milieu	Graines germées	2 feuilles bien vertes, 1 nœud et ébauche de 2 ^{ème} paire de feuilles.

➤ Résultats de la germination et embryogenèse somatique à l'IMRA (suite)

. Embryogenèse somatique

- Technique de l'embryogenèse somatique des boutons floraux ramenée à l'IMRA a été un échec.
- ✓ Le trajet Ambanja-Antananarivo a fait souffrir les fleurs et les microorganismes ont mis une croissance exponentielle pendant le trajet.
- Par contre l'embryogenèse somatique à partir des feuilles stériles ont donné des résultats positifs.
- 3 tubes sur 13 cultivés ont donné les résultats.

Jour de culture	10 jours après culture	17 jours après culture
Introduction des feuilles dans le milieu	Apparition des cals au bord des feuilles	Cals bien volumineux

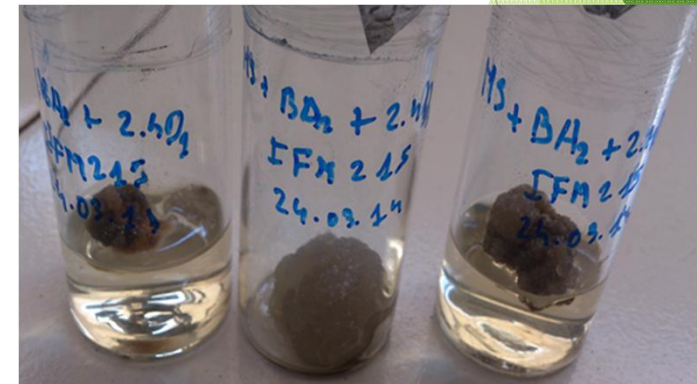


Photo des cals obtenus à partir des feuilles (source auteur)

➤ Formation de la technicienne de laboratoire d'Ambanja à l'IMRA

- Durée de formation: 3 mois
- Objectifs de la formation : lui transmettre les techniques habituelles de la culture *in vitro* ainsi que toutes les conditions strictes nécessaires pour cette technique.

Déroulement de la formation :

- Utilisation des équipements et matériels
- Préparation des milieux de culture de base
- Fabrication des hormones et vitamines végétaux
- Mise au point des techniques de désinfection
- Entretien des cultures *in vitro* et en serre

➤ Résultats de la formation de la technicienne de laboratoire d'Ambanja à l'IMRA

- La formation a été faite
- La technicienne a acquis toutes les techniques de base de la culture *in vitro* notamment celle de l'embryogenèse somatique
- Une telle technicité nécessite une expérience solide

➤ Montage d'un laboratoire de CIV au centre FOFIFA d'Ambanja

Objectif:
Création du laboratoire à proximité des arbres mères, à proximité des planteurs et pour pérenniser l'opération.

Principe:
Etat de lieu effectué par l'équipe de projet et aménagement de la structure opérationnelle pour culture *in vitro*.

Réalisation:
Aménagement du local et installations électriques par une équipe d'entrepreneur locale.

Réalisation:
Installation des équipements du laboratoire par l'équipe du projet.

➤ Résultats du montage d'un laboratoire de CIV à Ambanja



Salle de préparation



Hotte pour la culture



Etuve pour l'induction des cals



Salle de culture

➤ Transfert de compétence acquise de l'IMRA au laboratoire d'Ambanja

- Durée de séjour : 1 mois
- Objectif du séjour: transfert de technique de l'embryogenèse somatique acquise à l'IMRA au laboratoire d'Ambanja.
- Matériels biologiques utilisés: boutons floraux et feuilles de la variété IFM 215 du verger de FOFIFA.
- Technique de désinfection: remise au point sur place à cause de la fréquence élevée de la contamination.
- Milieu de culture utilisé: M1 et PCG déjà préparés à l'IMRA (résultats de la compilation bibliographique)

➤ Transfert de compétence acquise à l'IMRA au laboratoire d'Ambanja (suite)

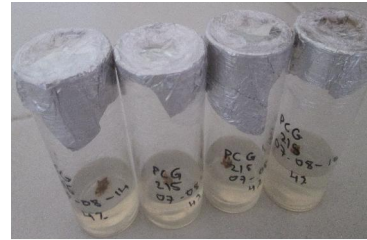


Boutons floraux

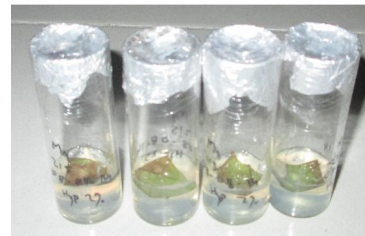


Jeunes feuilles

Désinfection



Fleurs cultivées



Feuilles cultivées

Mise à l'obscurité



Cultures étalées à l'obscurité

➤ Résultats de l'embryogenèse somatique au laboratoire d'Ambanja

- Maitrise de l'asepsie réussie malgré la fréquence élevée de la source de contamination et le manque des équipements adéquats pour la stérilisation.
- 1^{ère} semaine: taux de contamination des cultures varie de 10 à 80% pour les fleurs et 10 à 40% pour les feuilles
- 2^{ème} semaine: après prise des précautions pour diminuer les risques de contamination, aucun des tubes cultivés n'a été contaminé.

➤ Résultats de l'embryogenèse somatique au laboratoire d'Ambanja (suite)

	E.J 2% Cultivées le 06 /08 /14	E.J 3% Cultivées le 22/08/14	E.J 4% Cultivées le 07/08/14	H.Ca 2% Cultivées le 08/08/14 et le 19/08/14	H.Ca 3% Cultivées le 18/08/14	
M1	40%		40%	0%		11 Août
PCG	40%		10%	30%		
M1	80%		60%	0%		15 Août
PCG	40%		30%	30%		
M1	80%		60%	5%	0%	20 Août
PCG	40%		30%	15%	0%	
M1	80%		60%	5%	0%	22 Août
PCG	40%		30%	15%	0%	

Résultat sur l'asepsie des cultures des fleurs :
nombre de tubes contaminés/types de
désinfectants/milieu

	E.J 2% Cultivées le 13/08/14 et le 19/08/14	E.J 4 % Cultivées le 07/08/14	H.Ca 2% Cultivées le 08/08/14	
M1		10 %	20%	11 Août
PCG		0%	0%	
M1	0%	30%	40%	15 Août
PCG	0%	10%	20%	
M1	0%	30%	40%	20 Août
PCG	5%	10%	20%	
M1	0%	30%	40%	22 Août
PCG	5%	10%	20%	

Résultat sur l'asepsie des cultures des feuilles:
nombre de tubes contaminés/types de
désinfectants/milieu

➤ Résultats de l'embryogenèse somatique au laboratoire d'Ambanja (suite)

- Une partie des échantillons est ramenée à l'IMRA
- Objectifs :
 - assurer un bon suivi et entretien et réduire ainsi les dégâts
 - Pour une étude comparative des 2 laboratoires
- 7 jours après arrivée, des cals blancs ont apparus sur les fleurs.
- 12 tubes/ 50 ramenés ont donné les résultats dont 9/22 ramenés sur M1 et 3/28 ramenés sur PCG.



Photo des cals obtenus avec les fleurs
(source auteur)

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

- Ce projet nous à permis d'avoir des informations qui n'ont pas été encore décrites sur le cacao.
- Les 10 mois de projet était une période de diagnostic qui a permis d'évaluer le fonctionnement ou non des différentes techniques.
- Ce projet a permis quand même d'avoir des résultats concrets.
- Il y a encore parmi les objectifs fixés qui n'ont pas été entrepris pendant les 10 mois mais qui méritent d'être réalisés afin de créer des varités de Criollo productifs

Les points forts et les points faibles du laboratoire d'Ambanja

Points forts

Opérationnalité et fonctionnalité

Points faibles

Equipements insuffisants

La réussite de l'embryogenèse somatique nécessite impérativement un **BIOFERMENTEUR**





MERCI DE VOTRE AIMABLE
ATTENTION!

MULTIPLICATION CACAOYERE - MISE AU POINT DU PROCEDE DE LA CULTURE *IN VITRO*.



HARINARIVO Hoby Lalatiana

