



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Optimisation de l'acclimatation de vitroplants d'une accession de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) de la République Centrafricaine par la méthode de culture *ex vitro*

Nicole Géralde YAMBA KASSA GADO^{1*}, Janatu Veronica SESAY², Semballa SILLA¹, Adonise F ZANGO VALAM¹, Simplicie Prosper YANDIA¹, Nicolas NIEMENAK³ et Souleymane BADO⁴

¹ Laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le Développement, Faculté des Sciences, Université de Bangui, République Centrafricaine.

² Njala Agricultural Research Centre (NARC), Sierra Leone Agricultural Research Institute (SLARI), Freetown, Sierra Leone.

³ Laboratory of plant Physiology, Higher Teacher Training College, University of Yaoundé I, P.O. Box 47, Yaoundé, Cameroon.

⁴ University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna (BOKU), Austria.

*Auteur correspondant; E-mail: gadonicole@yahoo.com

Received: 28-01-2022

Accepted: 23-05-2022

Published: 30-06-2022

RESUME

Au cours de la dernière décennie, les accessions du manioc de la République Centrafricaine ont fait l'objet de nombreux travaux entre autres les cultures *in vitro* et la micropagation. Cependant les plants issus de la culture *in vitro* nécessitent une période d'acclimatation avant leur transfert en champ, d'où l'intérêt de cette étude dont l'objectif était d'évaluer l'effet de la qualité du sol et des facteurs de croissance sur l'acclimatation. Des explants de jeunes pousses obtenus à partir de la culture des segments nodaux sous serre étaient transplantés dans des tubes à essai contenant le milieu MS et placés dans la salle de croissance. Les microboutures issues de la culture *in vitro* ont été traitées avec des phytohormones de croissances et repiquées dans des bacs de culture contenant le fumier et le sol et replacées sous serre. En outre, les plantules issues de la culture *in vitro* ont été transférées *ex vitro* en entier dans des pots de culture contenant le fumier et le sol pour suivie sous serre. La micropagation *ex vitro* a montré le meilleur taux de survie dans le fumier que dans le mélange respectivement de 90% et 45%. Une meilleure croissance en hauteur a été révélée dans le fumier que dans le sol avec respectivement 2,68 cm et 1,05 cm. Ces observations étaient également confirmées par le plan d'expérience de transfert *ex vitro* des plantules entières dans les pots. Les données auxiniques sur le fumier ont révélé que l'Acide Indole-3-Acétique (ANA) semble être plus indiquée pour l'acclimatation que Acide Indole-3-Butyrique (AIB) et Acide α -Naphtalène acétique (ANA). Cette technique développée sur une accession de manioc pourrait être étendue à d'autres accessions et d'autres espèces végétales d'intérêt agronomique.

© 2022 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Acclimatation, manioc, culture *ex vitro*, vitroplants, République Centrafricaine.

Optimization of the acclimatization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) of vitroplants of Central African Republic by the *ex-vitro* culture method

ABSTRACT

Over the last decade, cassava accessions in the Central African Republic have been the subject of numerous studies, including *in vitro* culture and micropagation. However, the acclimatization of *in vitro*-grown plantlets to an *ex vitro* environment by gradually weaning them towards ambient relative humidity for the better survival of young and physiologically sensitive plantlets. This study therefore aimed to evaluate the effect of soil quality and growth factors on acclimatization. Sprouted shoots obtained from greenhouse nodal segment culture were transplanted into test tube containing MS medium were incubated in a controlled growth room. Microcuttings from *in vitro* culture were treated with growth phytohormones and transplanted in culture trays containing manure and soil and placed in the greenhouse. In addition, the seedlings from *in vitro* culture were transferred *ex vitro* whole into culture pots containing manure and soil for follow-up in the greenhouse. The *ex vitro* micropagation showed the best survival rate in manure than in the mixture of 90% and 45% respectively. Better height growth was revealed in manure than in soil with 2.68 cm and 1.05 cm respectively. These observations were also confirmed by the experimental design of *ex vitro* transfer of whole seedlings in pots. The auxin data on manure revealed that Indole-3-Acetic Acid (IAA) seems to be more suitable for acclimatization than Indole-3-Butyric Acid (IBA) and α -Naphthalene Acetic Acid (NAA). This technique developed on a cassava accession could be extended to other accessions and other plant species of agronomic interest.

© 2022 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords : Acclimatization, cassava, *ex vitro* culture, vitroplants, Central African Republic.

INTRODUCTION

Le manioc (*Manihot esculenta* Crantz) est un arbuste pérenne dont la culture est importante pour les pays tropicaux et subtropicaux d'Afrique et d'Amérique latine (Vernier et al., 2018). Il contribue à la sécurité alimentaire et aux revenus des populations de ces régions (Tize et al., 2021). La production du manioc se situe à la cinquième place dans les statistiques mondiales après le blé, le riz, le maïs, la pomme de terre (Yéo 2007). Malgré sa grande capacité d'adaptation à différentes conditions écologiques le manioc est très vulnérable aux maladies et aux ravageurs, qui baissent fortement la production (Ambang et al., 2007, IFAD, 2008).

En République centrafricaine (RCA), le manioc est une culture vitale, car il constitue l'aliment de base de 95% de la population avec une production de 692 002 tonnes de cossettes en 2018 (FAO/PAM, 2019). Son importance sur le plan alimentaire et économique a attiré l'attention de la communauté scientifique centrafricaine qui a commencé depuis quelques décennies à réaliser des travaux d'intérêt à l'amélioration de sa culture et sa transformation. Ainsi, une série des travaux ont été réalisées entre 2008 et 2020 sur la cartographie des zones agro-climatiques, la

diversité agromorphologique et génétique et surtout l'impact des maladies dont la mosaïque du manioc (Atlas RCA, 2008 ; Kosh-Komba et al., 2013 ; Yandia et al., 2015). Les niveaux de sensibilité de la tolérance et de la résistance de certaines accessions ont fait l'objet de plusieurs travaux. Des techniques *in vivo* et *in vitro* ont été initiées pour contrôler cette maladie.

La micropagation est une technique recommandée et testée qui permet une multiplication rapide de clones en une courte durée et dans un environnement contrôlé et stérile (Mvé et al., 2011). Cette technique nécessite plusieurs étapes qui peuvent être résumées en la phase d'initiation de culture *in vitro* et d'acclimatation sous serre avant le transfert en champ. Plusieurs cultivars de la RCA ont fait l'objet de culture *in vitro* permettant d'évaluer les conditions opératoires et les performances agronomiques en analysant le taux de survie, la taille, les racines et le nombre de feuilles (Zinga et al., 2016). Cependant, l'acclimatation des vitroplants à la sortie du laboratoire reste une étape difficile à maîtriser et qui varie en fonction de la spécificité de chaque accession. Au cours de l'acclimatation, plusieurs paramètres, à l'instar de la température, de l'eau, de la qualité du substrat font l'objet d'une attention particulière.

Des travaux menés par une étude comparative de l'acclimatation du manioc sous serre et en milieu réel en tenant compte du taux de survie, du diamètre de la hauteur de vitroplants ont montré des différences significatives en fonction des cultivars (Cacai et al., 2013). Le transfert des vitroplants de manioc dans des sachets contenant un mélange de sciure de bois et du sable stérilisé et transfert dans un bac de sevrage à 50 % d'ombre ont également montré un résultat prometteur (Valam et al., 2021). Une autre étude sur le bananier a montré l'effet de la fluctuation des températures et des quantités en eau sur le vitroplant du bananier (Mazinga al., 2014). C'est dans cette perspective que cette étude a été menée, dans le but d'évaluer l'effet de la qualité du substrat, précisément du sol et des phytohormones sur l'acclimatation d'une accession du manioc.

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Le matériel biologique pour cette étude était constitué de l'accession du manioc «Yalipé» bien connu en RCA, c'est une accession à haut rendement, avec un cycle de 12 mois avant maturité, sensible à la maladie de mosaïque du manioc et cultivée sur toute l'étendue du pays. Cette accession a été choisie par rapport aux résultats des travaux antérieurs réalisés par l'équipe du Laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le Développement. Les boutures de cette accession ont été transférées au Laboratoire d'Amélioration des Plantes et de Génétique à Seibersdorf en Autriche. Des boutures de plant d'environ 5 cm étaient plantées dans des pots contenant du sol et arrosées tous les jours. Cette plante donneuse était établie sous serre à 25°C +/- 2. Les tiges étaient prélevées au bout de 4 semaines pour l'initiation à la culture *in vitro* et le transfert sous serre pour la culture *ex vitro*.

Support de culture et réactifs

Le milieu de culture de Murashige et Skoog M 5519 (MS) enrichi a été utilisé pour l'initiation conformément au protocole de Sesay 2018 avant le transfert sous serre pour l'acclimatation (Sesay et al., 2018). Le fumier organique riche en phosphate, azote et potassium a été utilisé seul en association avec le sol pour la culture sous serre. Trois facteurs de croissance : AIA, AIB et ANA ont été

additionnés au plan expérimental afin d'évaluer leur effet sur l'acclimatation. Deux concentrations ont été appliquées à chaque fois, 1 mg/l et 2 mg/l.

Etablissement, initiation et culture *in vitro*

Les boutures ont été découpées à environ 4 cm avec 2 nœuds, plantées dans des pots contenant du sol stérilisé et placées sous serre à une température de 25°C. Après l'établissement, les jeunes pousses ont été récoltées, transférées sous le flux laminaire puis lavées à l'hypochlorite de sodium 20% (Clorox) afin de les stériliser. Les explants stérilisés ont été coupés à 1 ou 2 nœuds et transplantés dans un tube à essai contenant le milieu MS enrichi puis ces derniers ont été incubés dans une salle de croissance contrôlée à 22 ± 2°C pendant 3 mois.

Transfert et culture *ex vitro* sous serre

Trois types de support (fumier 100%, mélange fumier/sol 50/50 et sol 100%) ont été préparés et repartis dans les bacs de culture *ex vitro* et les pots de culture.

Bacs de culture : les plantules étaient coupées en microboutures, traitées avec des facteurs de croissance (AIA, AIB et ANA) avant d'être repiquées dans les bacs compartimentés contenant le fumier, le mélange fumier sol et le sol. Le bac était placé sous serre et suivi pendant une période de 6 semaines.

Pots de culture : les plantules issues de la culture *in vitro* étaient transplantées *ex vitro* en entier dans des pots de culture contenant le fumier, le mélange fumier sol et le sol. Ces pots étaient placés sous serre et suivi pendant une période de 6 semaines.

Collecte et analyse des données

Le nombre des plants survivus était recensé par pot et par bac pour la détermination du taux de survie qui est l'un des paramètres de performance dans le modèle étudié. Le taux de survie étaient déterminés par la formule :

$$\text{Nombre de plants survivus} \times 100$$

Total de plants transplantés

Les hauteurs de plants ont été relevées sur des fiches de laboratoire et enregistrés sur Excel (Microsoft Office 2010). Les différentes moyennes en fonction des conditions expérimentales étaient déterminées. Les moyennes sont comparées par le *test de Student* avec un niveau de significativité < 0,05.

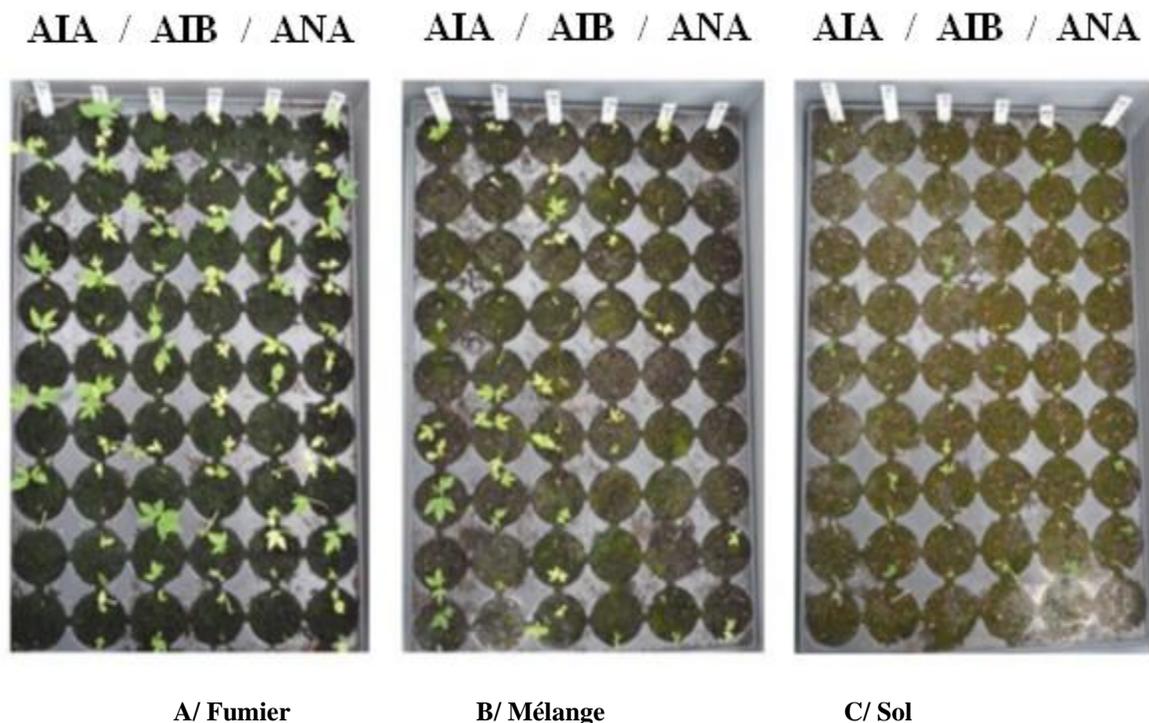


Figure 1 : Bacs de culture *ex vitro* avec les différentes conditions..

RESULTATS

Impact du sol et de l'auxine sur les microboutures ex vitro

Le Tableau 1 montre l'effet du sol et de l'auxine sur les microboutures *ex vitro* sous la serre. Le fumier s'est montré plus indiqué pour la phase de sevrage sous serre que le mélange fumier/sol et le sol avec un taux de survie de 90%, 45% et 15% respectivement. Cette observation était confirmée par les données de paramètre hauteur des plants dont 2,68 cm pour le fumier, 1,84 cm pour le mélange fumier/sol et 1,05 cm pour le sol montrant une différence significative ($p = 0,0006 < 0,05$). Les données auxiniques sur le fumier ont révélé que le ANA semble être plus indiquée pour l'acclimatation que l'AIA et l'AIB présentant un taux de survie de 92%, 89% et 89% respectivement.

Impact du sol sur les plantules ex vitro

Le Tableau 2 montre l'effet du sol sur la transplantation de la plantule *ex vitro*. Il en ressort que le fumier est plus adapté pour l'acclimatation en considérant les paramètres taux de survie et croissance en hauteur.

La Figure 2 montre les plantules sur pots de fumier après 10 semaines, présentant un phénotype prêt à être transféré dans un champ au milieu naturel.

Dans les deux cas d'expérience de transfert de microbouture *ex vitro* et de transplantation de plantules *ex vitro*, le fumier s'est révélé plus indiqué pour cette phase de transition que les autres supports testés en tenant compte du taux de survie et de la croissance en hauteur.

Tableau 1 : Paramètres de survie et de croissance en fonction de la composition du sol dans les bacs de cultures *ex vitro*.

Paramètres	Conditions			P-value
	Fumier	Fumier/ Sol	Sol	
Taux de survie (%)	90	45	15	-
Hauteur de plants (en cm)	2,68 ±0,63	1,84±0,35	1,05±0,3	0,0006 < 0,05

Tableau 2 : Paramètres de survie et de croissance en fonction de la composition du sol dans les pots de cultures *ex vitro*.

Paramètres	Conditions			P-value
	Fumier	Fumier/ Sol	Sol	
Taux de survie (%)	85	39	0	-
Hauteur de plants (en cm)	9,29 ± 1,61	6,8 ± 0,98	-	0,0011 < 0,05

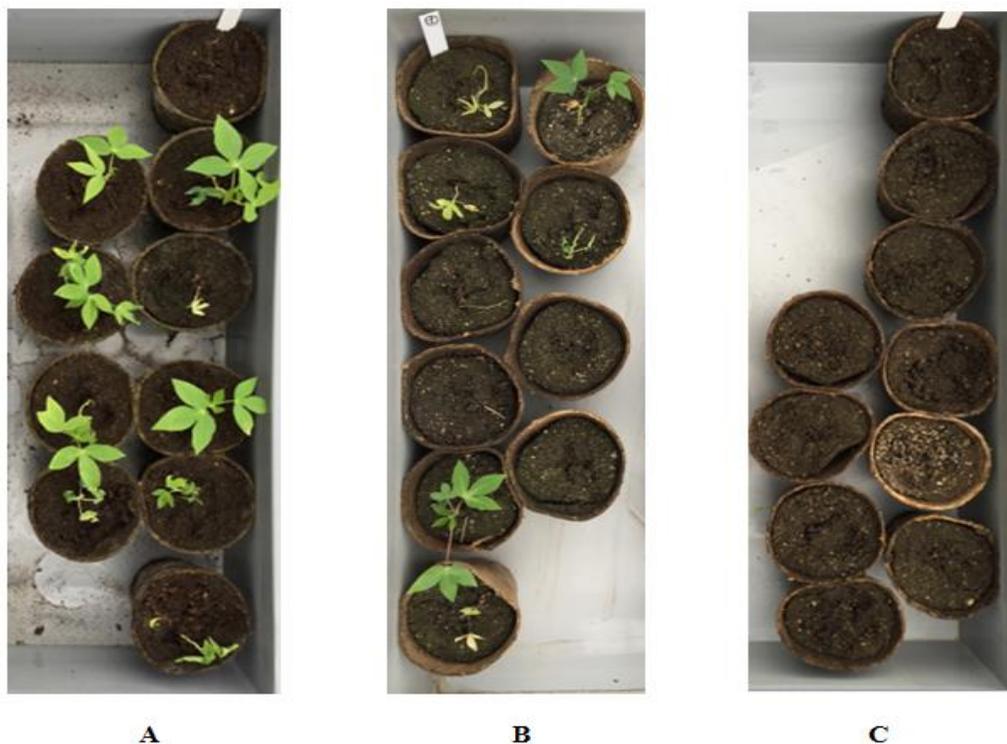


Figure 2 : Pots de culture *ex vitro* avec les différentes conditions : A : Fumier, B : Mélange Fumier/sol et C : Sol.



Figure 3 : Plantule de 10 semaines.

DISCUSSION

La production du manioc est, ces dernières années, sujette à la forte pression des maladies. Les méthodes de lutte contre ces maladies et ravageurs ont révélé leur insuffisance. L'utilisation des vitroplants constitue une approche de solution à ce problème. La culture du manioc comme pour toutes les plantes cultivées présentent des rendements très variables selon que les conditions du sol et du climat lui sont favorables ou défavorables (Tandzi et al., 2020). L'effet des fumiers et des termitières sur la croissance et le rendement du manioc et l'effet des régulateurs de croissance sur la culture *in vitro* du manioc étaient étudiés et documentés, ces facteurs sont importants pour la qualité de la culture (Ballot et al., 2016 a ; Ballot et al., 2016 b). La culture du manioc dans le champ se fait plus par bouturage à partir d'un échantillon mur. Les contraintes biotiques et abiotiques imposent l'apport de la biotechnologie dont la culture *in vitro* et la micropropagation qui nécessitent la chambre de culture, l'acclimatation sous serre avant le

transfert en champ (Teixeira et al., 2017). Ce passage de culture *in vitro* à la culture *ex vivo* et au passage en champ nécessite le contrôle de certains paramètres dont le sol afin d'éviter une perte considérable. Il est observé dans cette étude que l'acclimatation exige un sol de qualité et les facteurs de croissance sont nécessaires pour optimiser l'amélioration des échantillons acclimatés. Même acclimaté et transféré dans un champ, le plant de manioc aura toujours besoin d'un sol de qualité pour sa croissance et son rendement (Temegne et al., 2015 ; Moita et al., 2020).

Dans cette l'étude, l'accession du manioc a répondu différemment selon la nature du sol et les composants du milieu. La micropropagation *ex vitro* via les bacs de culture semblait présenter un meilleur rendement que la transplantation *ex vitro* dans les pots en tenant compte du taux de survie. En outre, elle permet de multiplier les microboutures d'avoir *in vitro* dans les tubes et ensuite *ex vitro* dans les bacs avant la transplantation dans le sol. Ce résultat est similaire aux travaux de culture *in vitro* et *ex*

in vitro sur la plante médicinale *Bauhinia racemosa* (Sharma et al., 2017).

En Afrique et en RCA, le développement du compost à partir des déchets organiques végétaux ou animaux peut être réalisé pour amender le sol permettant l'acclimatation, ceci favorisera également le recyclage de produits biodégradables et l'économie verte et circulaire. Les résultats obtenus sont différents à ceux d'une étude réalisée sur une autre accession de la RCA montrant un taux de régénération de 75% (Valam Zango et al., 2021). Une étude d'acclimatation du manioc au Bénin, réalisée sur un substrat à base de sol, de vermiculite, de terreau et du fumier a montré une amélioration de la croissance et du rendement de l'accession (Cacai et al., 2013). Les substrats constitués de terreau et d'un mélange terreau /sable ont stimulé les paramètres de croissance végétative au cours de l'acclimatation de la banane dans une étude réalisée à Katibougou au Mali (Sidibe et al., 2013).

L'effet du facteur de croissance ANA est comparable à celui d'une étude de transfert de vitroplant de tabac de l'environnement *in vitro* aux conditions *ex vitro* et également sur l'organogenèse *in vitro* de cultivars de manioc du Bénin (Hronková et al., 2003 ; Cacai et al., 2012).

Ces paramètres viennent compléter ceux déjà mis en évidence dans l'acclimatation à savoir la température, le niveau d'eau, l'effet d'humidité de l'air, l'irradiation, la concentration en CO₂ (Mazinga et al., 2014, Teixeira et al., 2017, Talbott et al., 2003). Des études d'acclimatation réalisées sur les orchidées qui sont des espèces physiologiquement très sensibles ont montré que le passage de stade vitroplants de la salle de culture à des conditions de serre, peuvent occasionner le dessèchement ou le flétrissement rapide et la mort en raison des changements d'environnement, à moins que des précautions importantes ne soient prises

pour adapter les plantules à un nouvel environnement (Teixeira et al., 2017). Les multitudes de paramètres susceptibles d'impacter l'acclimatation du manioc dans le modèle étudié, pourraient faire l'objet d'une modélisation mathématique avec l'utilisation des matrices d'optimisation des procédés afin d'avoir un algorithme de condition pour des expérimentations futures.

Les limites de cette étude sont liées à l'absence d'évaluation de pourcentage de croissance qui devrait prendre en compte le poids de la biomasse à l'état frais, le nombre de nœud en plus de la hauteur moyenne évaluée. En plus, la caractérisation phénotypique et le dosage de chlorophylle aurait pu renforcer les données. Enfin, le sol du champ expérimental de Seibersdorf utilisé lors des travaux a fait l'objet d'intensification de culture, ce qui pourrait entraîner une diminution significative de sa fertilité et de son rendement.

Conclusion

Les plantules cultivées *in vitro* peuvent être facilement altérées par des changements soudains des conditions environnementales après le transfert *ex vitro*. Ces travaux constituent le premier rapport sur quelques paramètres d'acclimatation de culture *in vitro* à la culture *ex vitro* sur une variété de manioc en RCA. Cette technique développée sur une accession de manioc pourrait être étendue à d'autres accessions et d'autres espèces économiquement importantes, rares et menacées en voie de disparition.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'y a aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

NGYKG, SS, et SB ont conçu le protocole de cette étude. Ngykg et JVS ont conduit l'expérimentation, SPY ont suivi et enregistré les données. NN et AFZV ont

analysé les données qui ont été interprétées par tous les auteurs. NGYKG a proposé le manuscrit. Tous les auteurs ont relu et approuvé le manuscrit.

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) pour son appui technique et financier à la réalisation de cette étude. Nos remerciements vont à l'endroit de M. Andreas DRAGANITSCH, Technicien en sélection variétale, Dr. Romaric NZOUMBOU-BOKO, Post-doctorant, et à toute l'équipe technique du LPBG.

REFERENCES

Ambang Z, Akoa A, Bekolo N, Nantia J, Nyobe L, Ongono YSB. 2007. Tolérance de quelques cultivars de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) et de l'espèce sauvage (*Manihot glaziovii*) à la mosaïque virale africaine et à la cercosporiose du manioc. *Tropicultura*, **25** (3) : 140-145.

Atlas de la République Centrafricaine. 2008. *Edition Enfance et Paix*, Kinshasa (RDC), 169 p.

Ballot CSA, Silla S, Atakpama W, Yangakola TM, Doubro Bô-Mbi A, Blavet D, Zinga I, Wala K, Batawila K, Akpagana K. 2016. Effet de fumures minérales sur le rendement et la qualité organoleptique du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) Dans La Zone De Savane Au Centre-Sud De Centrafrique. *European Scientific Journal Édition*, **12** (6): 1857 – 788. DOI: 10.19044/esj.2016.v12n6p185.

Ballot, Wango S, Atakpama W, Semballa S, Zinga I, Batawila K, Akpagana K. 2016. Amélioration des rendements de la culture du manioc (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiales, Euphorbiaceae) par les terres de termitières dans la zone de savane de Damara en République

Centrafricaine. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.*, **4** (2) : 40-53.

Cacai GHT, Ahanhanzo C, Dangou JS, Houedjissin SS, Agbangla 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. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **6**(4): 1593-1607. DOI: 10.4314/ijbcs.v6i4.19.

Cacai GHT, Noel ML, Nguema NP, Ondo OP, Agbangla C, Ahanhanzo C. 2013. Effets de l'acclimatation sur le comportement en milieu réel de quelques variétés améliorées de manioc (*Manihot esculenta*, crantz) cultivées au Bénin. *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé*, **15** (3) : 45-52.

FAO/PAM, 2019. Mission d'évaluation des récoltes et de la sécurité alimentaire en République Centrafricaine, *Rapport Spécial*.

Hronková M, Zahradníčková H, Šimková M, Šimek P, Heydová A. 2003. The Role of Abscisic Acid in Acclimation of Plants Cultivated *in vitro* to *ex vitro* Conditions. *Biologia Plantarum*, **46**: 535–541.

IFAD, 2008. Etude sur les potentialités de commercialisation des produits dérivés du manioc sur les marchés CEMAC. IRPCM, 272 p.

Kosh-Komba E, Akpavi S, Woegan Y A, Atato A, Duval M F, Dourma M, Zinga I, Yandia, P, Longue D, Semballa S, Batawila K, & Akpagana K. 2014. Diversité agromorphologique de *Manihot Esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) cultivée dans trois zones agroclimatiques en République Centrafricaine (RCA). *European Scientific Journal, ESJ*, **10**(3) : 365-380. DOI : <https://doi.org/10.19044/esj.2014.v10n3p> %p.

- Kosh-Komba E, Gbogbo KA, Akpavi S, Noyer J L, Duval M F, Zinga I Yandia P, Dourma M, Kandam, Silla S, Batawila K, Akpagana K. 2013. Diversité génétique du manioc (*Manihot esculenta* crantz euphorbiaceae à l'échelle du village Boukoko en Centrafrique. *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé*, Série A, **15** (3) : 15-24.
- Mazinga KM, Useni Sikuzani Y, Nyembo Kimuni L, Kasongo Lenge Mukonzo E, Tshitungu Bilitu E, Kapenda-Dumba E. 2014. Étude de l'acclimatation en serre de vitroplants de bananiers de la FHIA : « cas de FHIA-01 AAAB et FHIA-23 AAAA ». *Journal of Applied Biosciences*, **73**: 5911– 5924.
- Moita MLN, Hauser S, Egwekhide M, Batawila K, Kulakow P, Abberton M. 2020. Leaf and roots yields responses of three improved cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties to organo-mineral fertilizers and leaf harvest in the South-West Nigeria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **14**(4): 1432-1447. DOI: 10.4314/ijbcs.v14i4.21.
- Mvé SDM, Mergeai G, Baudoin JP, Toussaint A. 2011. Culture *in vitro* de *Jatropha curcas* L. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **15**(4): 567-574.
- Sesay JV, Gado-Yamba GN, Sherman-Kamara J, Quee DD. 2018. Development of *in vitro* propagation protocol for some recalcitrant cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes in Sierra Leone. *African Journal of Biotechnology*, **17**(18): 606-613. DOI: 10.5897/AJB2017.16330.
- Sharma U, Kataria V, Shekhawat NS. 2017. In vitro propagation, ex vitro rooting and leaf micromorphology of *Bauhinia racemosa* Lam.: a leguminous tree with medicinal values. *Physiol Mol Biol Plants.*, **23**(4): 969–977. DOI: 10.1007/s12298-017-0459-2.
- Sidibe AAB, Traore BM, Abdoulaye M, Sissoko B, Demele B. 2013. Acclimatation des vitro-plants de bananier (*Musa* sp.) sous tunnels à l'IPR/IFRA de Katibougou, Mali. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **7**(2): 739-749. DOI: 10.4314/ijbcs.v7i2.28.
- Talbott, Lawrence D, Rahveh E, Zeiger E, 2003. Relative humidity is a key factor in the acclimation of the stomatal response to CO₂. *Journal of Experimental Botany*, **54** (390): 2141–2147. DOI: 10.1093/jxb/erg215.
- Tandzi NL, Mutengwa SC. 2020. Factors Affecting Yield of Crops. *Agronomy - Climate Change & Food Security*, 108 p. DOI: 10.5772/intechopen.90672
- Teixeira DS, Jaime A, Musharof HM, Sharma M, Dobránszki J, Cardoso, ZENG Songjun JC. 2017. Acclimatization of *in vitro* derived Dendrobium. *Horticultural Plant Journal*, **3**(3): 110-124. DOI: 10.1016/j.hpj.2017.07.009.
- Temegne NC, Ajebesone FN, Kuate AF. 2015. Influence de la composition chimique du sol sur la teneur en éléments nutritifs et le rendement du manioc (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) dans deux zones agro-écologiques du Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **9**(6): 2776-2788. DOI: <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i6.21>
- Tize I, Fotso AK, Nukenine EN, Masso C, Ngome FA, Suh C, Lenzemo VW, Nchoutnji I, Manga G, Parkes E, Kulakow P, Kouebou C, Fiaboe KKM, Hanna R. 2021. New cassava germplasm for food and nutritional security in Central Africa. *Scientific Reports*, **11**: 7394. DOI: 10.1038/s41598-021-86958-w.

- Valam AFZ, Zinga I, Longué-Sopké RD, Yandia SP, Toko-Marabana B, Gado-Yamba KN, Otabo FR, Kamba-Mebourou E, Kosh Komba E, M'Villa A, Ankogui GF, Silla S, Mabanza J. 2021. Comparative Elimination of Begomoviruses in Cassava Meristems and Axillary Buds. *Journal of Experimental Agriculture International*, 43(4): 1-9. DOI: 10.9734/JEAI/2021/v43i430665.
- Vernier P, NZué B, Zakhia-Rozis N, 2018. Le manioc, entre culture alimentaire et filière agro-industrielle, *Agriculture Tropicale en Poche*. Éditions Quæ, CTA, Presses Agronomiques de Gembloux ; 235p.
- Yandia SP, Wouyou D, Agapit, Silla S, Dambier D, Gandonou CB, Toukourou F. 2015. Elimination of African cassava mosaic virus in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using meristem culture associated to thermotherapy. *International Journal of Development Research*, 5(10): 5655-5660.
- Yéo G, 2007. Potentialités à la transformation du manioc en Afrique de l'Ouest. In : Actes du 1^{er} Atelier international sur les potentialités à la transformation du manioc en Afrique de l'Ouest, Abidjan, Côte d'Ivoire, Amani G (éd) ; 48-79.
- Zinga I, Chiroleu F, Valam Zango A, Ballot C SA, Harimalala MA, Kosh-Komba K, Yandia PS, Silla S, Reynaud B, Lefeuvre P, Lett JM, Dintinger J. 2016. Evaluation of cassava cultivars for resistance to cassava mosaic disease and yield potential in Central African Republic. *Journal of Phytopathology*, 164 (11-12): 913-923. DOI: 10.1111/jph.12511.