



## Influence de l'âge des explants primaires sur la régénération des vitroplants de deux espèces d'ignames en côte d'Ivoire : *Dioscorea alata* et *Dioscorea cayenensis-rotundata* (Dioscoreaceae)

KOUAME Koffi honore<sup>1</sup>, KOFFI Kouablan Edmond<sup>2</sup>, KOUASSI Kouadio Ignace<sup>3</sup>, KOUASSI Kan Modeste<sup>4</sup>, KOUASSI Abou Bakari<sup>5</sup>, KOUAKOU Amani Michel<sup>6</sup>, ALLE Emmanuel<sup>7</sup>, N'GUETTA Assanvo Simon-Pierre<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de génétique, UFR-Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny (UFHB), 22 BP 582 Abidjan 22

<sup>2</sup>Laboratoire Central de Biotechnologies, Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), 01 BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales, UFR-Science de la Nature, Université Nangui Abrogoua (UNA), 02 BP 801 Abidjan 02

<sup>4</sup>Station de recherche sur les cultures vivrières, Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), 01 BP 663 Bouaké 01, Côte d'Ivoire.

Corresponding Author's E-mail: [kouamehonorek@hotmail.fr](mailto:kouamehonorek@hotmail.fr) Tel : ( 225) 05 06 20 99 /59 49 40 59

Original submitted in on 8<sup>th</sup> August 2016. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 30<sup>th</sup> November 2016  
<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v107i1.12>

### RÉSUMÉ

**Objectif :** En Côte d'Ivoire la production annuelle de *Dioscorea spp* est insuffisante à cause de la conservation des tubercules qui réduisent fortement les rendements des tubercule-semences. Il s'avère nécessaire de conserver tous les cultivars d'igname sous forme de vitroplant. Cette étude vise à évaluer l'effet du milieu de culture, de la désinfection et du type d'explants primaires sur la régénération et la conservation *in vitro*.

**Méthodologie et résultats :** Les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14, 21, 35 et 60 jours ont été désinfectés et mis en culture sur deux milieux de culture MS et MS modifié. Les explants primaires issus des tiges de 14 et 21 jours ont permis d'obtenir 99 à 100 % de vitroplants sains, 100 % de régénération au bout de 2 à 4 jours dans le milieu MS modifié avec en moyenne 3,82 à 5,14 nœuds et 1 à 2 tiges au bout de 60 jours. Tandis que ceux de 35 et 60 jours ont donné 35 à 74 % de vitroplants sains, 1 à 4 nœuds et 1 à 2 tiges. Le milieu MS modifié et Les explants primaires issus des tiges de 14 et 21 jours permettant de régénérer les vitroplants au bout de 3 à 4 jours en moyenne ont été retenus.

**Conclusions et application des résultats :** La conservation de toutes les variétés d'igname de la Côte d'Ivoire sous forme de vitroplants par la technique de régénération de tiges aériennes *in vitro* nécessite la satisfaction de certaines conditions. Ainsi pour la régénération de tous les cultivars les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 et 21 jours et le milieu de culture MS modifié ont été meilleurs. Tous les cultivars dans le milieu MS modifié ont été régénérés en moins d'une semaine et les vitroplants sains ont eu une bonne croissance offrant beaucoup de nœuds qui ont servi d'explants secondaires. La présente étude indique les

possibilités de production à grande échelle de semences des variétés d'igname pour répondre aux impératifs de sauvegarder et d'enrichir les ressources génétiques de l'igname en Côte d'Ivoire.

**Mots clés** : Igname, explants primaires, cultivars, régénération, vitroplants, milieu de culture, âge, Côte d'Ivoire.

### **Influence of age to primary explants on the regeneration of vitroplant of two yam species in Côte d'Ivoire : *Dioscorea alata* and *Dioscorea cayenensis-rotundata* (Dioscoreaceae)**

#### **ABSTRACT**

*Objectives*: The annual production of *Dioscorea* spp in Côte d'Ivoire is insufficient because of the conservation of tubers, which greatly reduce the tuber yields. It is necessary to keep all of yam cultivars as vitroplant. This study aims to evaluate the effect of the culture medium, disinfection and type of primary explants on regeneration and in vitro conservation.

*Methodology and Results*: Primary explants taken on older stems 14, 21, 35 and 60 days were disinfected and cultured on MS culture media and modified MS media. Primary explants from the stems of 14 and 21 days have resulted in 99 to 100% of healthy vitroplants, 100% of regeneration after 2 to 4 days in MS medium amended with an average of 3 to 5 nodes and 1 to 2 stems after 60 days. While those of 35 and 60 days gave 35-74% healthy vitroplants, from 1 to 4 nodes and 1 to 2 stems. The modified MS medium and primary explants from stems 14 and 21 days to regenerate the vitroplants after 3 to 4 days on average were selected.

*Conclusions and application of findings*: The conservation of all varieties of yam from Côte d'Ivoire as vitroplants by aerial stems regeneration technique requires the satisfaction of certain conditions.

So for the regeneration of all cultivars primary explants taken on older stems of 14 and 21 days and the modified MS culture medium were better. All cultivars in the modified MS medium were regenerated in less than a week and healthy vitroplants had good growth with many knots that served as secondary explants. This study shows the large-scale possibilities of seeds production for yam varieties to meet the requirements to safeguard and enrich the genetic resources of yams in Côte d'Ivoire.

**Keywords**: yam, primary explants, cultivars, regeneration, vitroplants, culture medium, age, Côte d'Ivoire.

#### **INTRODUCTION**

Les ignames (*Dioscorea* spp) sont des plantes herbacées à tubercule et des angiospermes monocotylédones qui se multiplient végétativement par le tubercule. Elles appartiennent à la famille des dioscoreaceae et au genre *Dioscorea* (Aké-Assi, 1984). L'igname, de par sa production mondiale estimée à environ 60,2 millions de tonnes par an, occupe au plan mondial la 4<sup>ème</sup> place, après la pomme de terre, la patate douce et le manioc (FAO, 2013). En Côte d'Ivoire, l'igname (*Dioscorea* spp) occupe la première place dans la production des cultures vivrières. Sa production annuelle est estimée à 5,8 millions de tonnes de tubercules frais devant le manioc (FAO, 2013). Les tubercules sont des sources de nourriture pour des millions d'habitants et servent de nourriture de base aux 2/3 de la population ivoirienne. Les tubercules servent

de matériel de plantation ; ils sont découpés en fragments et constituent des semenceaux ou tubercule-semences pour la prochaine plantation. Ils sont des sources de revenus pour les producteurs et les commerçants (Doukouré *et al.*, 2000). Malgré sa première place, la production annuelle de l'igname reste toujours insuffisante pour satisfaire les besoins alimentaires de la population ivoirienne (Odounfa, 1990). L'une des causes est la conservation des tubercules. Cette conservation des tubercules frais occasionne des pertes de poids allant de 65 à 85 % (Corneille *et al.*, 2012) et des pertes de plus de 30 % de la récolte provoquées par la déshydratation, les blessures lors de la récolte, les parasites (les insectes, les nématodes, les champignons, les bactéries), les prédateurs (rongeurs) et les vols (Foua-Bi, 1993 ; Gérardin, 1996). Ces pertes

réduisent fortement les rendements, par conséquent, la quantité des tubercule-semences et provoquent parfois la disparition de certaines variétés. Du coup, la conservation des ignames sous forme de tubercules ne garantit pas une meilleure préservation des variétés d'ignames cultivées. En revanche, les méthodes de conservation à travers la culture des tissus offrent une alternative dans la recherche de solutions aux problèmes inhérents à la conservation des ressources phylogénétiques (Ahanhanzo *et al.*, 2012) Pour sauvegarder les ressources génétiques des ignames de la Côte d'Ivoire, il s'avère nécessaire de conserver toutes les variétés sous forme de vitroplants par la technique de la culture *in vitro*. Cette technique présente de nombreux avantages : taux de multiplication très élevées permettant une production de vitroplants sains à grande échelle ; faible encombrement facilitant la conservation de milliers de vitroplants sur peu de surface et le coût de production d'un vitroplant est réduit (Alain, 1986) . C'est, donc, au regard de nombreux avantages liés à l'utilisation de cette méthode que des travaux ont été

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

**Matériel végétal :** Les tubercules de dix cultivars d'igname récoltés dans la collection en champ du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) de la station de Bouake, ont été utilisés. Il s'agit de cinq cultivars de *Dioscorea alata* : cDa O83, cDa 053, cDa 115, cDa 150 et cDa 266 et de cinq cultivars de *Dioscorea cayenensis-rotundata* : cDr 015, cDr 027, cDr 150, cDr 206 et cDr 148. Chez les *D. alata*, les cultivars cDa O83, cDa 115 et cDa 150 appartiennent à la variété Nza, tandis que les cultivars cDa 053 et cDa 266 sont de la variété Bètè-bètè. Au niveau des *D. cayenensis-rotundata*, les cultivars cDr 015, cDr 027 et cDr 150 sont des ignames tardives récoltées une seule fois, alors que les cultivars cDr 206 et cDr 148 sont des ignames précoces qui sont récoltées deux fois l'année. Tous les cultivars présentent des caractéristiques agromorphologiques qui les distinguent les uns des autres. Les tubercules, récoltés sur ces cultivars, ont servi de matériel végétal pour la production des tiges en serre.

**Dispositif expérimental :** Le dispositif expérimental est un bloc complètement aléatoire ou en randomisation totale. Pour chaque essai, 98 tubes à essai, répartis dans deux portoirs, ont été utilisés par cultivar. Un essai a été répété 2 fois. Les essais ont été réalisés au laboratoire de

initiés, en Côte d'Ivoire en vue de son application sur l'igname. Mais, malgré les nombreux travaux réalisés par plusieurs chercheurs, entre autres Arnolin (1985), Ahoussou (1989), Doukouré *et al.* (2000). aucun milieu adéquat, ni aucune méthode de stérilisation fiable n'ont été mis au point pour permettre l'introduction *in vitro* de tous les cultivars. A ce jour, à cause des échecs de régénération *in vitro*, il y a des centaines de cultivars qui n'ont pas encore été introduits, ni conservés à la vitrothèque du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), en Côte d'Ivoire. L'objectif général de la présente étude était contribué à une meilleure gestion des ressources génétiques de l'igname. Plus spécifiquement, elle vise à rechercher un milieu de culture adéquat, des conditions de désinfection fiable et le type d'explants primaires approprié qui faciliteront la régénération et la conservation *in vitro* de tous les cultivars d'igname en culture en milieu paysan chez les populations ivoiriennes.

culture *in vitro* à la station du Laboratoire Central de Biotechnologie (L C B) du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) d'Adiopodoumé en Côte d'Ivoire.

**Désinfection des explants primaires :** Les tubercules sains des dix cultivars d'ignames citées plus haut ont été plantés dans des pots remplis de terreau noir et disposés dans la serre du Laboratoire Central de Biotechnologies (LCB) du CNRA à d'Adiopodoumé. Après la germination, des explants primaires (fragments de tiges porteurs d'un seul nœud avec deux portions de feuilles) ont été prélevés sur les tiges âgées de 14 à 60 jours. Les explants primaires prélevés en serre ont été rincés à l'eau distillée stérile avant d'être introduits dans la salle de culture. Ils ont été rincés à nouveau à l'eau distillée stérile avant d'être désinfectés sous la hotte à flux laminaire : Les explants primaires ont été trempés dans de l'éthanol à 70 % (v/v), pendant 5 minutes, puis rincés 3 fois à l'eau distillée stérile pendant 5 minutes par rinçage. Ils ont été aussitôt immergés, pendant 30 minutes, dans une solution aqueuse d'hypochlorite de calcium à 3 % à laquelle ont été ajoutées 2 gouttes de tween 20. Ils ont été ensuite rincés 3 fois à l'eau distillée stérile pendant 5 minutes par rinçage. Les explants ainsi désinfectés ont été séchés avant leur mise en culture.

**Mise en culture des explants :** Les explants primaires désinfectés et débarrassés des parties nécrosées ont été mis en culture sur 2 milieux de régénération. Il s'agit du milieu MS et du milieu MS modifié. Les macroéléments et les microéléments de MURASHIGE et SKOOG (1962) additionné de la vitamine de Morel constituent le milieu MS. Les macroéléments et les microéléments de MURASHIGE et SKOOG (1962) additionné de la vitamine

de NITSCH représentent le milieu MS modifié. Chaque milieu a été réparti dans les tubes à essai (16 mm x 150 mm) à raison de 10 ml / tube à essai et stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Une seule bouture (un seul explant) a été ensemencée verticalement avec le nœud apparent au-dessus du milieu dans chaque tube à essai (Figure 1).

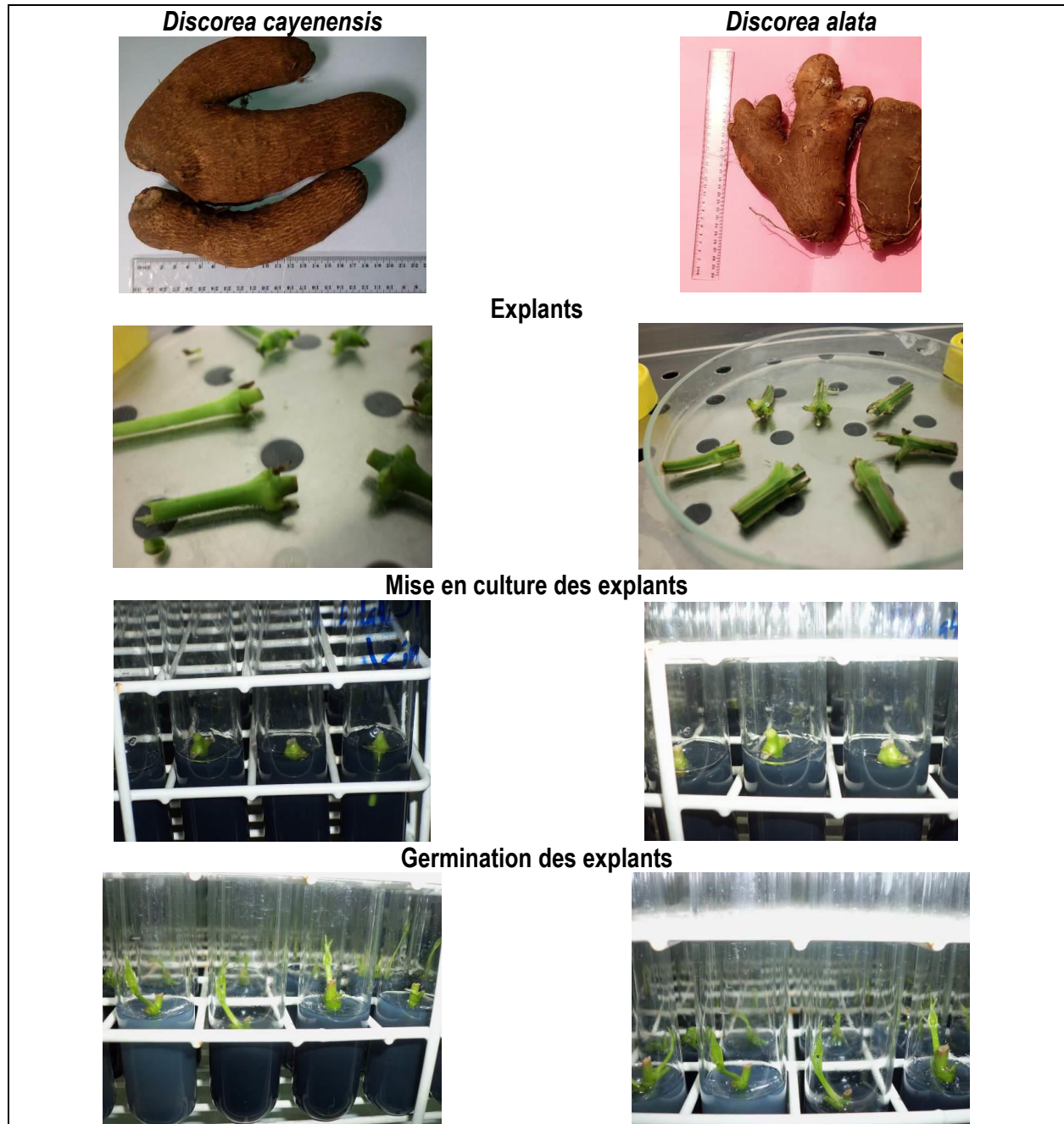


Figure 1. Régénération des explants issues de tiges de *Dioscorea cayenensis* et *Dioscorea alata*

Les tubes à essai, hermétiquement fermés avec des bouchons plastiques et scellés à l'aide du papier cellophane, ont été placés dans une chambre de culture ou salle de conditionnement à une température maintenue constante de 27 °c et à une photopériode de 12 heures de lumière. L'humidité relative de la salle est constante à 80 %.

**Paramètres étudiés :** La croissance des vitroplants a été suivie pendant 60 jours durant lesquels l'effet de l'âge (14, 21, 35 et 60 jours après la germination) des boutures a été testé. Les autres paramètres étudiés ont été le taux de vitroplants sains, le temps de régénération, le nombre de nœuds et le nombre de tiges.

**Analyse des données :** Les facteurs tels que l'âge des explants primaires, les désinfectants et le type de milieu ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA), en vue de connaître leurs effets individuels ou combinés sur les paramètres étudiés. La signification de la différence des moyennes a été déterminée en comparant la probabilité *P* associée à la statistique de ANOVA au seuil théorique de  $\alpha = 0,05$ . Ainsi lorsque  $P \geq 0,05$ , on a déduit qu'il n'existe pas de différence significative, par contre lorsque  $P < 0,05$ , une différence significative est observée entre les différentes moyennes. Tous les tests ont été effectués grâce au logiciel R.

## RÉSULTATS

**Effet de l'âge des explants primaires sur le taux de vitroplants sains :** Les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA) ont montré une différence significative ( $P < 0,05$ ) du taux de vitroplants sains, en fonction de l'âge des tiges obtenues après la germination des tubercules. Le taux de vitroplants sains a varié, lorsque

les tiges sont âgées de 14 à 60 jours. Toutefois, le taux plus élevé (99 à 100%) a été observé chez les tiges jeunes âgées de 14 et 21 jours, avec l'ensemble des variétés. Les fragments de tiges relativement jeunes ont enregistré un effet bénéfique de la désinfection beaucoup plus important que ceux des tiges âgées (Tableau 1).

**Tableau 1 : Influence de l'âge des explants primaires sur le taux de vitroplants sains.**

Cultivars <sup>1</sup>	14 Jours	21 Jours	35 Jours	60 Jours	<i>P</i>
cda083	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	94,50 ± 1,73 <sup>b</sup>	42,25 ± 13,50 <sup>c</sup>	< 0,0001
cda053	99,25 ± 0,50 <sup>a</sup>	99,75 ± 0,50 <sup>a</sup>	96,25 ± 2,87 <sup>a</sup>	35,80 ± 10,29 <sup>b</sup>	< 0,0001
cda115	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	98,75 ± 0,95 <sup>a</sup>	95,50 ± 3,36 <sup>a</sup>	39,62 ± 21,75 <sup>b</sup>	< 0,0001
cda150	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	96,25 ± 3,40 <sup>b</sup>	75,16 ± 0 <sup>c</sup>	< 0,0001
cda266	99,25 ± 0,50 <sup>a</sup>	99,50 ± 0,57 <sup>a</sup>	96,50 ± 2,38 <sup>b</sup>	56,72 ± 16,39 <sup>c</sup>	< 0,0001
cdr015	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	99,25 ± 0,50 <sup>a</sup>	97,00 ± 0 <sup>b</sup>	64,52 ± 15,36 <sup>c</sup>	< 0,0001
cdr027	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	99,25 ± 0,50 <sup>a</sup>	98,50 ± 1 <sup>a</sup>	64,78 ± 17,71 <sup>b</sup>	0,0002
cdr150	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	99,00 ± 0 <sup>a</sup>	96,00 ± 0 <sup>b</sup>	58,32 ± 20,15 <sup>c</sup>	0,0002
cdr206	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	99,00 ± 0 <sup>a</sup>	95,5 ± 3,00 <sup>b</sup>	55,22 ± 48,22 <sup>c</sup>	< 0,0001
cdr148	100,0 ± 0 <sup>a</sup>	99,00 ± 0 <sup>a</sup>	97,00 ± 2,00 <sup>a</sup>	51,14 ± 19,94 <sup>b</sup>	< 0,0001

<sup>(1)</sup> Pour les cultivars, les valeurs sont statistiquement différentes lorsque  $P < 0,05$ .

**Effet des milieux sur le temps de régénération :** Les explants primaires, prélevés sur des tiges en serre âgées de 14, 21, 35 et 60 jours ont été mis en culture sur les milieux MS et MS modifié. Les analyses ont indiqué que le temps de régénération diffère significativement d'un milieu à l'autre ( $P < 0,05$ ) concernant les cultivars de *D. alata* (cda083et cda150) et de *D. cayenensis-rotundata* (cdr015, cdr027 et cdr206). Le milieu MS modifié a permis d'obtenir un meilleur temps c'est-à-dire le temps le

plus court pour la régénération de ces cultivars de *Dioscorea alata* et *Dioscorea cayenensis-rotundata*. Le temps de régénération varie de 3,3 à 4,28 jours dans le milieu MS modifié tandis que dans le milieu MS il varie de 3,75 à 4,89 jours. Par ailleurs il n'existe pas de différences significatives entre le temps de régénération à partir des milieux MS et MS modifié concernant les cultivars de *D. alata* (cda053, cda115 et cda266) et de *D. cayenensis-rotundata* (cdr150 et cdr148) (Tableau 2).

**Tableau 2 : Influence des milieux sur le temps de régénération des explants primaires.**

Cultivars <sup>1</sup>	MS	MS Modifié	P
cda083	3,75± 1,75 <sup>a</sup>	3.55 ± 1,47 <sup>b</sup>	0,015
cda053	3,77 ± 1,41 <sup>a</sup>	3,64 ± 1,2 <sup>a</sup>	0,92
cda115	4,04 ± 1,29 <sup>a</sup>	3,53 ± 1,19 <sup>a</sup>	0,94
cda150	4,17 ± 1,24 <sup>a</sup>	3,30 ± 0,89 <sup>b</sup>	0,014
cda266	4,30 ± 1,34 <sup>a</sup>	3,77 ± 1,09 <sup>a</sup>	0,25
cdr015	4,66± 1,30 <sup>a</sup>	3,81 ± 1,18 <sup>b</sup>	0,002
cdr027	4,89± 1,28 <sup>a</sup>	4,12 ± 1,16 <sup>b</sup>	0,0015
cdr150	4,86 <sup>a</sup> ± 1,59 <sup>a</sup>	4,25 ± 1,09 <sup>b</sup>	0,10
cdr206	4,68 ± 1,42 <sup>a</sup>	4,14 ± 1,3 <sup>b</sup>	0,008
cdr148	4,81 ± 1,41 <sup>a</sup>	4,28 ± 1,29 <sup>a</sup>	0,67

(<sup>1</sup>) Pour les cultivars, les valeurs sont statistiquement différentes lorsque  $P < 0,05$ .

MS : Milieu de Murashige et Skoog

**Effet de l'âge des explants primaires sur le temps de régénération.** : Les explants primaires âgés de 14 à 60 jours ont été mis en culture sur le milieu MS modifié. Les analyses ont révélé dans l'ensemble des différences significatives sur le temps de régénération des explants primaires ( $P < 0,05$ ). Les explants âgés de 14 jours et 21 jours ont donné le plus court ou réduit temps de

régénération pour tous les cultivars par rapport à ceux de 35 jours et 60 jours. Ainsi, le temps de régénération des explants de 14 jours et 21 jours a varié respectivement en moyenne de 2,70 à 3,76 jours et de 2,96 à 4,38 jours. Les explants plus jeunes réagissent plus promptement au milieu de culture que ceux qui sont relativement plus âgés. (Tableau 3).

**Tableau 3 : Influence de l'âge des explants primaires sur le temps de régénération.**

Cultivars <sup>1</sup>	14 Jours	21 Jours	35 Jours	60 Jours	P
cda083	2,70 ± 0,61 <sup>b</sup>	2,96 ± 0,85 <sup>b</sup>	4,25 ± 1,04 <sup>a</sup>	5,84 ± 2,27 <sup>a</sup>	0,01
cda053	3,14 ± 0,72 <sup>c</sup>	3,44 ± 0,83 <sup>c</sup>	3,76 ± 0,97 <sup>b</sup>	5,32 ± 2,01	0,27
cda115	3,16 ± 0,84 <sup>c</sup>	3,52 ± 0,90 <sup>c</sup>	4,22 ± 0,89 <sup>b</sup>	5,00 ± 1,97 <sup>a</sup>	0,037
cda150	3,28 ± 0,90 <sup>c</sup>	3,62 ± 0,94 <sup>c</sup>	4,05 ± 0,84 <sup>b</sup>	5,63 ± 2,01 <sup>a</sup>	0,001
cda266	3,54 ± 0,86 <sup>c</sup>	3,70 ± 0,88 <sup>c</sup>	4,21 ± 1,01 <sup>B</sup>	5,41 ± 1,79 <sup>a</sup>	0,02
cdr015	3,56 ± 0,88 <sup>c</sup>	3,88 ± 1,00 <sup>c</sup>	4,64 ± 0,95 <sup>a</sup>	5,70 ± 1,70 <sup>a</sup>	0,014
cdr027	3,92 ± 0,82 <sup>b</sup>	4,38 ± 1,00 <sup>b</sup>	4,95 ± 1,40 <sup>a</sup>	5,16 ± 1,75 <sup>a</sup>	0,002
cdr150	3,76 ± 0,84 <sup>c</sup>	4,08 ± 0,94 <sup>b</sup>	5,52 ± 1,26 <sup>a</sup>	5,32 ± 1,81 <sup>a</sup>	0,005
cdr206	3,52 ± 0,62 <sup>c</sup>	3,96 ± 0,83 <sup>c</sup>	5,25 ± 1,14 <sup>b</sup>	5,79 ± 1,88 <sup>a</sup>	0,001
cdr148	3,68 ± 0,74 <sup>b</sup>	4,02 ± 0,86 <sup>b</sup>	5,64 ± 1,11 <sup>a</sup>	5,61 ± 1,69 <sup>a</sup>	< 0,0001

(<sup>1</sup>) Pour les cultivars, les valeurs sont statistiquement différentes lorsque  $P < 0,05$ .

**Effet de l'âge des explants primaires sur le nombre de nœuds** : Les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 à 60 jours ont été mis en culture sur le milieu MS modifié. Les analyses ont montré dans l'ensemble des différences significatives du nombre de nœud en

fonction des explants ( $P < 0,05$ ). Les explants issus des tiges de 14 jours et 21 jours ont enregistré le plus grand nombre de nœuds pour chacun des cultivars. Ce nombre a varié en moyenne de 3,82 à 5,20 nœuds (Tableau 4).

**Tableau 4 :** Influence de l'âge des explants primaires sur nombre de nœuds.

Cultivars <sup>1</sup>	14 Jours	21 Jours	35 Jours	60 Jours	P
cda083	4,90 ± 0,54 <sup>a</sup>	4,76 ± 0,59 <sup>a</sup>	3,86 ± 0,67 <sup>b</sup>	2,14 ± 0,49 <sup>c</sup>	< 0,0001
cda053	4,96 ± 0,63 <sup>a</sup>	4,82 ± 0,69 <sup>a</sup>	3,52 ± 0,57 <sup>b</sup>	2,2 ± 0,58 <sup>c</sup>	< 0,0001
cda115	4,92 ± 0,60 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,67 <sup>a</sup>	3,78 ± 0,41 <sup>b</sup>	1,94 ± 0,51 <sup>c</sup>	< 0,0001
cda150	5,14 ± 0,49 <sup>a</sup>	4,88 ± 0,55 <sup>b</sup>	3,58 ± 0,49 <sup>c</sup>	2,10 ± 0,54 <sup>d</sup>	< 0,0001
cda266	4,78 ± 0,50 <sup>a</sup>	4,58 ± 0,64 <sup>a</sup>	3,26 ± 0,44 <sup>b</sup>	1,78 ± 0,54 <sup>c</sup>	< 0,0001
cdr015	4,22 ± 0,58 <sup>a</sup>	4,00 ± 0,67 <sup>b</sup>	2,98 ± 0,42 <sup>c</sup>	1,46 ± 0,50 <sup>d</sup>	< 0,0001
cdr027	4,14 ± 0,53 <sup>a</sup>	3,96 ± 0,63 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,53 <sup>b</sup>	1,60 ± 0,49 <sup>c</sup>	< 0,0001
cdr150	4,08 ± 0,52 <sup>a</sup>	3,82 ± 0,66 <sup>b</sup>	3,14 ± 0,49 <sup>c</sup>	1,76 ± 0,43 <sup>d</sup>	< 0,0001
cdr206	5,20 ± 0,49 <sup>a</sup>	4,84 ± 0,58 <sup>b</sup>	3,54 ± 0,57 <sup>c</sup>	2,06 ± 0,42 <sup>d</sup>	< 0,0001
Cdr148	4,00 ± 0,49 <sup>a</sup>	3,82 ± 0,62 <sup>a</sup>	2,98 ± 0,42 <sup>b</sup>	1,44 ± 0,54 <sup>d</sup>	< 0,0001

<sup>(1)</sup> Pour les cultivars, les valeurs sont statistiquement différentes lorsque  $P < 0,05$ .

**Effet de l'âge des explants primaires sur le nombre de tiges :** Les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 à 60 jours ont été mis sur le milieu MS modifié. Les résultats ont montré que la moitié des cultivars a présenté une différence significative ( $P < 0,05$ )

du nombre de tiges en fonction des explants. Les explants issus des tiges de 14 jours et 21 jours ont le plus grand nombre de nouvelles tiges émises. Ce nombre a varié en moyenne de 1,52 à 1,84 tiges (Tableau 5).

**Tableau 5 :** Influence de l'âge des explants primaires sur le nombre de tiges

Cultivars <sup>1</sup>	14 Jours	21 Jours	35 Jours	60 Jours	P
cda083	1,84 ± 0,68 <sup>a</sup>	1,76 ± 0,68 <sup>a</sup>	1,25 ± 0,44 <sup>b</sup>	1,07 ± 0,27 <sup>c</sup>	0,30
cda053	1,76 ± 0,62 <sup>a</sup>	1,68 ± 0,62 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,31 <sup>b</sup>	1,16 ± 0,37 <sup>b</sup>	0,21
cda115	1,76 ± 0,59 <sup>a</sup>	1,67 ± 0,62 <sup>a</sup>	1,15 ± 0,36 <sup>b</sup>	1,04 ± 0,20 <sup>c</sup>	0,03
cda150	1,78 ± 0,64 <sup>a</sup>	1,74 ± 0,63 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,38 <sup>b</sup>	1,08 ± 0,28 <sup>c</sup>	0,20
cda266	1,82 ± 0,66 <sup>a</sup>	1,84 ± 0,73 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,35 <sup>b</sup>	1,12 ± 0,33 <sup>b</sup>	0,04
cdr015	1,58 ± 0,57 <sup>a</sup>	1,62 ± 0,56 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,38 <sup>b</sup>	1,12 ± 0,33 <sup>b</sup>	0,37
cdr027	1,58 ± 0,60 <sup>a</sup>	1,58 ± 0,57 <sup>a</sup>	1,16 ± 0,37 <sup>b</sup>	1,00 ± 0 <sup>c</sup>	0,67
cdr150	1,62 ± 0,63 <sup>a</sup>	1,52 ± 0,57 <sup>a</sup>	1,21 ± 0,41 <sup>b</sup>	1,00 ± 0,27 <sup>c</sup>	0,09
cdr206	1,78 ± 0,64 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,65 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,26 <sup>b</sup>	1,04 ± 0,20 <sup>b</sup>	0,03
Cdr148	1,62 ± 0,63 <sup>a</sup>	1,54 ± 0,57 <sup>a</sup>	1,15 ± 0,36 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,32 <sup>b</sup>	0,08

<sup>(1)</sup> Pour les cultivars, les valeurs sont statistiquement différentes lorsque  $P < 0,05$ .

## DISCUSSION

La culture *in vitro* (CIV) exige la stérilisation du matériel végétal. De ce fait toutes les opérations ou manipulations ont été effectuées en conditions aseptiques. Le taux de vitroplants sains obtenu avec les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 et 21 jours a été très élevé (98 à 100%). Ce taux élevé est dû au fait que ces explants primaires sont très jeunes et ne sont pas encore lignifiés. L'absence de lignine permet à la solution désinfectante ou antiseptique de pénétrer profondément les tissus de l'épiderme et de l'endoderme pour éliminer tous les germes se trouvant dans le parenchyme (Margara, 1989), ce qui rend la stérilisation des jeunes explants plus facile. Il existe une différence très significative du taux de vitroplants sains entre ces jeunes explants primaires et ceux prélevés sur les tiges plus âgées (35 et 60 jours). Ce résultat sur le faible taux de vitroplants sains des tiges âgées a été observé par Doukouré *et al.* (2000). Après 5 jours de mise en culture, tous les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 et 21 jours de tous les cultivars ont régénéré. Le milieu MS modifié a été meilleur par rapport au milieu MS. Il a permis la régénération de tous les explants primaires quel que soit le cultivar. Cette efficacité serait due à la vitamine de NITSCH, car les deux milieux ont la même concentration ionique de base. Le temps de régénération a été court ou réduit parce que, non seulement le milieu MS modifié est favorable à la régénération mais aussi ces jeunes explants primaires auraient une totipotence de multiplication cellulaire très active et une plus grande aptitude à l'organogénèse. Ils sont donc très actifs et

## CONCLUSION

La conservation de toutes les variétés d'igname de la Côte d'Ivoire sous forme de vitroplants par la technique de régénération de tiges aériennes *in vitro* nécessite la satisfaction de certaines conditions. Ainsi pour la régénération de toutes les cultivars les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 et 21 jours et le milieu de culture MS modifié ont été meilleurs : avec les tiges âgées de 14 et 21 jours la désinfection a été facile et totale permettant d'obtenir presque 100% de vitroplants sains, tous les cultivars dans le milieu MS modifié ont été régénérés en moins d'une semaine et les vitroplants

régénèrent plus vite. Ce constat a été également fait par Doukouré et Tuo-Touré (1993) et Zoundjihépon (1995). Les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 à 21 jours ont été meilleurs pour la régénération chez tous les cultivars des deux espèces. Ce résultat est en accord avec ceux de Passam (1995). Le nombre de nœuds correspond au taux de multiplication et traduit la quantité d'explants secondaires à prélever sur les tiges des vitroplants issus de la croissance des explants primaires. Le nombre moyen de nœuds a été plus élevé qu'avec les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 et 21 jours. Un taux moyen de multiplication 4 à 6 nœuds a été obtenu au bout de 9 semaines, contrairement à Ondo (2007) chez qui le taux de multiplication a été de 15,7 au bout de 28 semaines. La différence significative du taux de multiplication entre les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 et 21 et l'âge des autres explants est la conséquence de leur réactivité dans le milieu MS modifié. Le nombre moyen de tiges le plus élevé a été obtenu avec les explants primaires prélevés sur les tiges âgées de 14 et 21 jours (1,58 à 1,84 tiges). Il y a une différence significative avec les autres explants plus âgés. Ce nombre a été en dessous de celui obtenu par Supriya (2013), (7,7 tiges) en associant dans le milieu de culture de l'AIA et de la kinétine. Les vitroplants issus de la régénération d'explants primaires prélevés sur des tiges âgées de 14 jours sur le milieu MS modifié ont eu beaucoup de nœuds avec des tiges feuillées bien vertes.

sains ont eu une bonne croissance offrant beaucoup de nœuds qui ont servi d'explants secondaires. Au niveau de la multiplication végétative, différentes investigations pourraient porter sur l'étude de la nature du substrat dans lequel les organes sont ensemencés, la teneur en eau du substrat et le rythme d'arrosage. Aussi, afin de déterminer la nature exacte de la cause de Il serait important de suivre les jeunes plants régénérés en milieu naturel jusqu'à la récolte pour voir s'il n'y a pas de différence de la qualité technologique des tubercules des plants introduits et les plants sauvages.

*D. alata* L. cultivés *in vitro*. IV congrès sur la protection de la santé humaine et des cultures en milieu tropical. Marseille : 15 – 19.

Aké-Assi L. 1984. Flore de la Côte d'Ivoire : étude descriptive et biogéographique avec quelques

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Ahousou N et Toure B. 1986. Quelques aspects du comportement des fragments de tubercules et tige de *Dioscorea cayenensis-rotundata* et de



- notes ethnobotaniques. Vol. 3. Thèse de doctorat. Université d'Abidjan (Côte d'Ivoire).
- Peters A, 1986. Mémoire de fin d'étude de l'IRSTOM. Rapport de stage ORSTOM : Quelques aspects de la morphogénèse des ignames cultivées in vitro. 7 p.
- Arnolin R, 1985. Bouturage in vitro, en vue de la production des plants chez l'igname (*Dioscorea* sp. L). Thèse de doctorat 3<sup>e</sup> cycle. Uni. De Paris-Sud Centre d'Orsay. 135 p.
- Corneille A, Agbidinokoun A., Agbangla C, Adjanohoun A, Kumulungui B, Ondo P, Nzang R, Souza P, 2012. Capacité morphogénétique in vitro de quelques accessions d'ignames du complexe *Dioscorea cayenensis* / *D. rotundata* cultivées au Bénin et évaluation de la quantité d'ADN du matériel régénéré. Revue Ivoirienne de Science et Technologie 20 : 68-86.
- Doukouré S, 2000. Thèse de doctorat : Amélioration de la production de l'igname, par bouturage in vitro, chez les cultivars Florido et Brazo Fuerte de *Dioscorea alata*. 333 UFR Biosciences. Université de Cocody – Abidjan. 6 – 85 pp
- Doukouré S, Ahoussi N, Zoundjehépon J et Tio-Touré B, 2000. Culture *in vitro* chez l'igname (*dioscorea* sp.) influence du milieu de culture sur la régénération du micro boutures. *Agronomie Africaine* 12 (3) : 105-113
- FAO, 2013. FAO statistical yearbook. World Food and agriculture, FAO, Rome, Italy. 307 p
- Foua- Bi K, 1993. Les altérations post-récoltes des fruits, tubercules, rhizomes et racines. Atelier sur les problèmes de stockage des fruits, tubercules et autres denrées périssables. Du 22 au 26 / 11 / 1993 à Yamoussoukro (AUPEL / UREF). 24 p.
- Gerardin Q, 1996. Technologie après récolte de l'igname : Étude de l'amélioration du stockage traditionnel en Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat ès sciences techniques. École Polytechnique Fédérale Zurich. 136 p.
- Margara J, 1989. Base de la multiplication végétative. Le méristème et l'organogénèse. INRA- Paris – 189 p.
- Murashige T and Skoog F, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue culture. *Physiology of Plant* 15: 473 – 497.
- Odufa A, 1990. Typologie et stabilité de comportement alimentaire : Une approche par le transfert élargi en Côte d'Ivoire. Thèse de 3<sup>e</sup> cycle. Université Paris X ; France, 416 p.
- Ondo O, Kevers C and Dommes J, 2007. Axillary proliferation and tuberization of *Dioscorea cayenensis-D. rotundata* complex. *Plant Cell Tissue organ cult.* 91: 107 -114.
- Passam H, 1995. Induction, Storage and germination of microtuber derived from single node cuttings of mature yam plant. *Tropical Science* 35: 217 – 219.
- Supriya D, Manabendra D and Pranab B, 2013. Micropropagation of *Dioscorea alata* L. through nodal segments. *African Journal of Biotechnology* 12 (47) : 6611 – 6617.
- Zoundjihépon J, Hamon P, Ahoussou N, Doukouré S, Tio-Touré B and Hamon S, 1995. Biotechnologie et gestion des ressources génétiques des ignames africaines. Cinquièmes journées scientifiques de l'AUPELF – UREF, Dakar – Sénégal, 18 p.