

CULTURE *IN VITRO* CHEZ L'IGNAME (*Dioscorea sp.*) : INFLUENCE DU MILIEU DE CULTURE SUR LA REGENERATION DES MICROBOUTURES

S. DOUKOURE¹, N. AHOSSOU¹, J. ZOUNDIHEKPON² ET B. TIO-TOURE³

¹Laboratoire de Génétique, Université de Cocody, 22 BP. 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

²Consultant indépendant - 06 BP. 2026 Cotonou 06 - Bénin.

³Unesco - 1, Rue Miollis, 75 015, Paris-France.

RESUME

L'une des difficultés liées à l'installation d'une vitrothèque est la mise au point de milieux de culture favorables à la régénération *in vitro* des microboutures chez plusieurs variétés de cultures. La présente étude, entreprise pour combler en partie cette lacune, a été réalisée sur cinq milieux de culture. Elle a permis de retenir les milieux de culture M50 et 2GGC qui ont permis chacun la régénération des microboutures chez plus de 50 % des 115 génotypes d'ignames étudiés. Les milieux de culture 2GH1, CL82-1 et MHW78 ont quant à eux, favorisé la production de cal. Il n'existe pas de différence significative, d'une part entre les milieux de culture MHW78 et CL82-1 à partir desquels des vitroplants ont été obtenus respectivement chez 16,51 % et 13,91 % des génotypes, et d'autre part, entre les milieux de culture CL82-1 et 2GH1. Ce dernier a seulement permis l'obtention de vitroplants chez 8,69 % des génotypes étudiés.

Mots clés : Igame, milieu de culture, vitroplants, vitrothèque, Côte d'Ivoire.

ABSTRACT

IN VITRO CULTURE OF YAM (Dioscorea sp.) : INFLUENCE OF THE CULTURE MEDIUM ON THE REGENERATION OF MICROCUTTINGS

One of the difficulties encountered in vitrobank installation resides in the obtention of a culture medium favourable to *in vitro* regeneration of microcuttings in several yam varieties. The present study designed to fill in part this gap, was conducted with five culture media. From this study M50 and 2GGC media that allowed in each one the regeneration of microcuttings of more than 50 % of the 115 genotypes studied were retained. The other media (2GH1, CL82-1, and MHW78) promoted callus production. There was no significant difference on the one hand, between MHW78 and CL82-1 media from which the vitroplants, were obtained, respectively in 16,51 % and 13,91 % of genotypes and, on the other hand, between CL82-1 and 2GH1 media. The last one had only permitted the obtention of vitroplants in 8,69 % of the genotypes studied.

Keywords : yam, culture, medium, vitroplants, vitrobank, Côte d'Ivoire.

INTRODUCTION

L'igname est une plante du genre *Dioscorea* qui renferme plus de 600 espèces (MIEGE, 1952). Ce genre produit

généralement des tubercules qui fournissent 12 % de l'alimentation énergétique des populations situées en zone intertropicale humide (Degras *et al.*, 1977). De part sa production (2,05 à 2,55 millions de tonnes par an), l'igname se place en pre-

mière position parmi les cultures vivrières en Côte-d'Ivoire (Anonyme, 1991).

La conservation des ignames sous forme de tubercules au magasin après récolte, puis au champ, d'une année à l'autre, pose de sérieux problèmes. En effet, cette méthode de conservation est coûteuse et occasionne des pertes de plus de 30 % des génotypes par an (Foua-Bi, 1993 ; Zoundjihékpon, 1993 ; Gerardin, 1996). Ces pertes sont dues d'une part aux bactéries et aux champignons qui provoquent des pourritures, d'autre part aux insectes, aux rongeurs ainsi qu'à la déshydratation de certains tubercules. Pour remédier à ces problèmes, la conservation à partir de graines serait la mieux indiquée. Cette voie est limitée par le fait que la majeure partie des variétés de cultures d'ignames ne produisent pas de graine à cause des conditions de floraison et de fructification difficiles (Zoundjihékpon, 1993).

Pour la constitution d'une vitrothèque d'ignames, des études ont été entreprises afin de minimiser les coûts et les pertes. Cela permet aussi bien la conservation des génotypes, que la disponibilité d'une collection regroupant une variabilité suffisante pour les activités de recherche.

La constitution d'une telle vitrothèque passe par la technique de microbouturage. Cependant, depuis l'apparition de ces techniques, aucun milieu de culture (favorable à la culture de plusieurs espèces), n'a encore été mis au point, malgré les travaux réalisés dans ce domaine par de nombreux chercheurs sur diverses plantes tels : le tabac (Murashige et Skoog, 1962), l'igname (Mantell *et al.*, 1978 ; Arnolin, 1985 ; Doukouré, 1985 ; Ahoussou et Touré, 1986, Malaurie *et al.*, 1988 ; Ahoussou, 1989), la pomme de terre (Nozeran et Bancilhon, 1972), le manioc (Fereol, 1978 ; Zoundjihékpon, 1982 ; Rodriguez, 1995) et le riz (Coulibaly, 1986), etc.

L'objectif de la présente étude est de rechercher le(s) milieu(x) de culture

succéptible(s) de favoriser l'organogénèse chez les microboutures provenant de plusieurs cultivars d'ignames, afin de faciliter leur introduction et leur conservation *in vitro*.

MATERIEL ET METHODES

Des cultivars appartenant à trois espèces d'igname, provenant du Bénin, du Cameroun et de la Côte d'Ivoire ont été expérimentés. Il s'agit de :

- *D. alata* (23 cultivars) ;
- *D. esculenta* (7 cultivars),
- *D. cayenensis*- *D. rotundata* (72 cultivars et 13 hybrides).

La stérilisation des explants primaires prélevés sur des tiges âgées de trois mois des cultivars de l'espèce *D. alata*, a été faite à l'aide d'une solution d'hypochlorite de calcium à 2 %, additionnée de 2 à 3 gouttes de Teepol (mouillant) pendant 15 min. Les explants provenant des tiges des autres espèces et les hybrides sont lignifiés depuis l'âge de trois mois, ce qui rend difficile leur stérilisation à l'hypochlorite de calcium. Ils ont ensuite été désinfectés avec le chlorure mercurique à 1 % pendant 5 min.

Les stérilisations ont été suivies de trois rinçages à l'eau distillée stérile durant 10 min.

L'ensemencement des milieux de culture solidifiés par les explants stérilisés, a été fait sous une hotte à flux laminaire. Cinq milieux de culture ont été utilisés. Il s'agit des milieux de culture : 2GH1, MHW78, CL82-1, 2GGC et M50 (tableau 1). Les milieux de culture 2GH1 et MHW78 sont des modifications du milieu de culture de base de White (1943). Quant aux milieux de culture 2GGC, CL82-1 et M50, ils ont été obtenus à partir du milieu de culture de base de Heller (1953).

Les cultures ont été placées dans une salle à 27 °C avec un éclairage de 25 Watt / m² et sous une photopériode de 12 h.

Des observations quotidiennes ont été réalisées sur 15 microboutures par cultivar, pour chaque milieu de culture,

pendant trois mois. Le nombre de cultivars ayant émis des organes ou des cals a été noté par milieu de culture.

Pour les analyses statistiques, le test de chi (X²) et les méthodes de comparaisons de pourcentages ont été utilisés.

Tableau 1 : Composition des milieux expérimentés pour la culture *in vitro* chez *Dioscorea sp.*
The composition of the culture Media used in in vitro culture of Dioscorea sp.

Composants	Composition des différents milieux de culture				
	2GH1	2GGC	CL82-1	MHW78	M50
<u>Macro-éléments (g/l)</u>					
KH ₂ PO ₄	1,25	0,17	0,17	1,25	0,17
NH ₄ NO ₃	-	1,65	1,65	-	1,65
KNO ₃	-	1,90	1,90	-	1,90
CaCl ₂ .2H ₂ O	-	0,44	0,44	-	0,44
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,25	0,37	0,37	1,25	0,37
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	5	-	-	5	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,25	-	-	1,25	-
KCl	1,25	-	-	1,25	-
<u>Micro-éléments (mg/l)</u>					
H ₃ BO ₄	200	6,2	6,2	200	6,2
MnSO ₄ .4H ₂ O	15,1	22,3	22,3	15,1	22,3
ZnSO ₄ .4H ₂ O	200	8,5	8,5	200	8,5
KI	-	0,83	0,83	-	0,83
Na ₂ MnO ₄ .2H ₂ O	-	0,25	0,25	-	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	6	0,025	0,025	6	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	0,025	0,025	-	-
AlCl ₃	6	-	-	6	-
NiCl ₂ .6H ₂ O	6	-	-	6	-
Na ₂ EDTA	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,027	0,027	0,027	0,027	0,027
<u>Vitamines (mg/l)</u>					
Myo-inositol	10	10	10	10	10
Acide nicotinique	-	-	-	-	-
Chlorure de pyridoxal	500	100	-	500	100
Thiamine	50	100	-	50	100
Biotine	0,005	0,001	0,001	0,005	0,001
Pantothénate de Ca	0,1	-0,1	0,1	0,1	0,1
Acide folique	-	-	-	-	-
Acide ascorbique	-	100	-	-	100
<u>Hormones</u>					
ANA (0,1mg/ml)	0,1	-	-0,2	-0,1	-
AIA (0,1mg/ml)	-	-	-	-0,2	-
BAP (0,1mg/ml)	0,2	-	-	-	-
KIN (1 g/l)	-	-	-	-	-
<u>Autres (g)</u>					
Glycine	-	0,200	0,200	0,200	-
Glutamine	0,200	-	-	-	-
Saccharose	30	30	30	50	50
Agar	8	8	8	8	8
Gélérite	-	-	-	-	-
Charbon actif	-	2	-	-	2

RESULTATS

La répartition des organes émis par les cultivars de *Dioscorea sp.* est statistiquement différente sur les cinq milieux de culture étudiés. L'émission d'organes (tige feuillée et racine) par les microboutures non infectées sur les différents milieux de culture a été meilleur dans les milieux 2GGC et M50 ; car ces milieux ont favorisé la régénération des explants respectivement chez 57 et 50 génotypes sur les 115. Les trois autres milieux de culture ont favorisé la production de cals (tableau 2).

desquels des vitroplants ont été obtenus respectivement chez 16,51 % et 13,91 % de génotypes et d'autre part entre le milieu de culture CL82-1 et le milieu de culture 2GH1. Ce dernier a seulement permis la reprise chez 8,69 % de génotypes et est statistiquement différent du milieu de culture MHW78 (tableau 3).

Tous les cultivars appartenant à *Dioscorea alata* produisent des vitroplants sur les milieux de culture 2GGC et M50. Au niveau de l'espèce *Dioscorea esculenta*, seul un cultivar (Esc. 10) n'a pu donner de vitroplant dans aucun des milieux

Tableau 2 : Emission d'organes et de cals à partir de microboutures de 115 cultivars d'igname mis en culture.

Organogenesis and callogenesis of microcuttings from 115 yam genotypes under in vitro culture.

Origines des cals et des organes	Nombre de cals et d'organes émis à partir de microboutures				
	Milieu de culture				
	2 GH1	CL82-1	MHW78	2 GGC	M50
Tige	4	9	9	17	14
Tige et racine	6	12	15	57	50
Tige et cal	6	3	3	3	6
Tige, racine et cal	4	4	3	7	9
Racine	5	1	2	4	7
Cal	30	13	11	6	9
Racine et cal	1	6	3	6	5

Une étude comparative des pourcentages de génotypes ayant produit des vitroplants (tige feuillée et racine ou tige feuillée, racine et cal) par milieu de culture, a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les milieux de culture M50 et 2GGC. Les effets des deux milieux de culture qui ont permis respectivement la production de vitroplants chez 51,30 % et 55,65 % de cultivars mis en culture sont statistiquement différents des trois autres. Il n'existe pas de différence significative, d'une part entre les milieux de culture MHW78 et CL82-1 à partir

Tableau 3 : Taux de génotypes d'igname ayant produit des vitroplants par milieu de culture.

Percent of yam genotypes producing vitroplants per culture medium.

Milieu de culture	% génotypes
2GH1	8,69 c
CL82-1	13,91 cb
MHW78	16,51 b
2GGC	55,65 a
M50	51,30 a

NB : Les chiffres portant les mêmes lettres sont statistiquement égaux

de culture étudiés. 50 % des cultivars du complexe *Dioscorea cayenensis* - *Dioscorea rotundata*, ainsi que tous les

hybrides, ont produit des vitroplants, principalement dans les deux milieux de culture les plus riches : 2GGC et M50 (tableau 4).

Tableau 4 : Emission d'organes et de cals par des microboutures de 115 génotypes de *Dioscorea* sp.
Organogenesis and callogenesis of microcuttings from 115 yam genotypes of Dioscorea sp.

Espèce	génotype	Organes émis par milieu de culture				
		2GH1	CL82-1	MHW78	2GGC	M50
<i>D. alata</i>	608	-	ct	ctr	tr	ctr
	899	c	c	c	tr	tr
	1831	t	ctr	tr	tr	tr
	668	c	ctr	tr	tr	tr
	866	ct	c	ctr	ctr	ctr
	1829	-	cr	ctr	tr	tr
	287	-	-	tr	t	ctr
	966	-	c	-	tr	tr
	1834	c	tr	-	tr	tr
	901	c	c	-	tr	tr
	1088	-	t	-	tr	tr
	590	-	-	-	tr	tr
	602	r	-	-	tr	tr
	1836	c	-	-	tr	t
	33	-	-	-	tr	tr
	988	tr	-	tr	tr	tr
	1462	tr	-	-	tr	tr
	1835	-	-	-	tr	tr
	1793	-	-	-	-	tr
	964	c	-	-	tr	tr
	Aké Assi	tr	-	-	tr	tr
	Brazo f.	tr	tr	tr	tr	tr
	Florida	-	tr	tr	tr	tr
<i>D. cay-rot</i>	1310	r	-	-	cr	c
	1503	-	-	-	r	-
	1593	c	t	t	tr	ctr
	1716	c	-	cr	tr	cr
	1754	-	r	-	ctr	c
	1782	-	-	cr	-	-
	1812	r	-	-	tr	-
	1087	-	-	-	tr	-
	1757	c	-	-	-	tr
	1817	-	c	-	tr	cr
	669	r	cr	-	t	ctr
	1470	c	c	t	t	ctr
	1626	-	tr	t	ctr	t
	1661	-	-	-	-	tr
	1672	-	-	-	tr	tr
	1749	c	tr	tr	tr	tr
	1800	t	t	t	t	tr
	1811	cr	cr	-	tr	tr
	465	c	ct	-	-	-
	1336	-	-	-	-	-
	1478	-	t	t	t	tr
	521	-	t	-	tr	tr
	1781	c	t	-	tr	tr
	1110	-	-	-	-	-
	1607	-	-	-	t	-
	1286	c	c	-	tr	c

Tableau 4 : (suite)

Espèce	génotype	Organes émis par milieu de culture				
		2GH1	CL82-1	MHW78	2GGC	M50
<i>D. cay-rot</i>	1786	c	-	-	-	-
	1634	-	-	c	cr	cr
	69	ct	-	-	t	-
	1523	-	-	-	t	t
	1726	r	-	-	c	-
	1730	-	-	-	r	r
	1772	c	-	-	r	c
	1692	c	-	ct	t	t
	329	ct	c	-	ct	ct
	275	-	-	c	c	c
	462	c	-	-	t	ct
	1731	-	-	-	ct	t
	1735	-	-	-	c	r
	497	c	-	-	t	tr
	508	c	-	-	c	c
	1693	ctr	t	tr	tr	tr
	1679	-	c	t	c	ct
	1744	-	ct	c	cr	ct
	1546	-	-	c	t	t
	<i>D. esculenta</i>	Esc.2	ct	c	c	ctr
<i>D. cay.-rot.</i>	1746	-	-	-	ct	r
	Frou	-	-	-	t	r
	938	-	-	-	r	cr
	1760	-	-	-	-	-
	660	-	-	-	-	-
<i>D. esculenta</i>	Esc.1	-	-	c	t	t
<i>D. cay.-rot.</i>	1464	c	-	c-	tr	t
	1556	ct	c	-	tr	tr
	1457	-	-	-	-	-
<i>D. esculenta</i>	Esc.9	c	c	-	t	tr
<i>D. cay.-rot.</i>	1291	-	-	t	tr	ctr
	1700	-	-	-	-	-
	1609	-	tr	t	tr	tr
<i>D. esculenta</i>	Esc.5	-	-	-	tr	tr
<i>D. cay-r</i>	464	t	-	-	tr	tr
	1799	t	-	ct	ctr	tr
	872	-	ctr	-	tr	tr
	1628	-	cr	t	tr	tr
	1702	c	-	-	t	t
	1354	ctr	cr	-	tr	tr
	1495	-	-	c	cr	r
	494	-	t	-	tr	cr
	1614	-	t	ct	ctr	tr
	1149	ctr	-	c	tr	t
	59	ct	-	c	ctr	ctr
	1630	-	-	-	cr	t
	1767	-	t	-	tr	tr
<i>D. esculenta</i>	Esc.8	c	-	-	tr	ctr
Hybride	H-150	c	tr	tr	tr	tr
	H-153	c	ctr	tr	tr	tr
	H-224	-	-	-	tr	tr

Tableau 4 : (fin)

Espèce	génotype	Organes émis par milieu de culture				
		2GH1	CL82-1	MHW78	2GGC	M50
Hybride	H-150	c	tr	tr	tr	tr
	H-153	c	ctr	tr	tr	tr
	H-224	-	-	-	tr	tr
	H-241	-	tr	-	tr	tr
	H-226	-	-	-	r	tr
	H-14	-	-	-	tr	r
	H-112	c	cr	r	tr	tr
	H-244	c	tr	tr	tr	tr
	H-147	-	tr	tr	-	tr
	H-210	-	r	tr	tr	tr
	H-211	-	tr	tr	tr	tr
	H-98	-	-	r	tr	r
	H-13	-	tr	-	tr	tr
<i>D. esculenta</i>	Esc.10	c	-	c	-	-
	Esc.6	-	-	tr	tr	tr
<i>D. cay.-rot</i>	1847	-	t	ct	ctr	tr
	1857	-	-	ct	tr	ctr

NB: c = cal, ct = cal et tige, ctr = cal, tige et racine,
t = tige, tr = tige et racines.

D. cay.-rot. = *D. cayenensis*-*D. rotundata*.

DISCUSSION

Les explants primaires issus de tiges ont été retenus pour la mise en culture *in vitro* des cultivars. Sur les différents milieux de culture stérilisés, non seulement parce qu'ils se prêtent relativement plus facilement à la désinfection, mais surtout pour leur aptitude à l'organogénèse par rapport aux feuilles, aux tubercules et aux racines, comme l'ont constaté Malaurie *et al.* (1988) ; Doukouré (1990) ; Doukouré et Tio-Touré (1993) ; Zoundihekpon *et al.* (1995).

Les milieux de culture M50 et 2GGC ont permis respectivement la production de vitroplants chez 51,30 % et 55,65 % de cultivars mis en culture. Ils sont statistiquement différents des trois autres milieux de culture. Il n'existe pas de différence significative d'une part entre les milieux de culture MHW78 et CL82-1 à partir desquels des vitroplants ont été obtenus respectivement chez 16,51 % et 13,91 % de génotypes, et d'autre part, entre les

milieux de culture CL82-1 et 2GH1. Ce dernier a seulement permis la reprise chez 8,69 % de génotypes. Par contre, son effet est statistiquement différent de celui du milieu de culture MHW78.

L'efficacité des milieux de culture M50 et 2GGC par rapport aux trois autres milieux de culture serait due au fait que la concentration ionique de leur milieu de culture de base (milieu de HELLER) est plus élevée que celle du milieu de culture de base des trois autres milieux de WHITE (Doukouré, 2000).

La présence de composés phénoliques (se traduisant par un brunissement du milieu de culture) dans les milieux de culture a été observée dans les milieux de culture 2 GH1, CL82-1 et MHW78. Ce phénomène de brunissement de milieu de culture peut être dû à la présence d'éléments toxiques à forte concentration de sels minéraux dans ces milieux de culture. Les microboutures, en réagissant, produisent des composés phénoliques qui, pourraient avoir un effet

inhibiteur sur la croissance. En effet, ces substances tendent à défavoriser les échanges gazeux et cationiques entre le milieu de culture et les microboutures. Ce brunissement peut également inhiber la néoformation de plantes *in vitro* chez les cultivars étudiés sur les trois milieux de culture. Les effets néfastes du brunissement ont été observés dans les mêmes conditions par Grivet (1990). Henderson et Nitsch (1962) ont montré que certains composés phénoliques peuvent stimuler ou inhiber la croissance des plantes. Stom (1982) a d'ailleurs précisé que les monophénols inhibent la croissance des plantes.

L'introduction de charbon actif (2 g/l) et l'acide ascorbique (100 mg/l) dans les milieux de culture 2GH1 et MWH78 a entraîné une réduction considérable du brunissement des milieux de culture, causé par les composés phénoliques.

De nombreuses pertes sont survenues au cours de la conservation des vitroplants. Ces pertes seraient dues d'une part aux caractéristiques des génotypes, aux milieux de culture, et d'autre part au phénomène de dégénérescence causé par des repiquages successifs et enfin, probablement, à la présence de virus chez les vitroplants.

CONCLUSION

Le problème d'infection, principal problème au début de l'installation d'une vitrothèque, est relativement bien maîtrisé avec l'emploi de l'hypochlorite de calcium chez *Dioscorea alata* et de chlorure mercurique chez les autres espèces d'igname. Le brunissement des milieux de culture causé par la présence de composés phénoliques qui constitue un handicap sérieux pour le démarrage des microboutures a été éliminé par l'apport d'acide ascorbique (100 mg/l) et de charbon actif (2 g/l).

Les milieux de culture : 2GGC et M50 ont été retenus pour la mise en culture *in vitro* des génotypes de notre collection d'igname en champ, car ils favorisent chacun l'organogénèse chez plus de 50 % des génotypes. La régénération de 80 génotypes (toutes espèces confondues) sur les 115 étudiés dans les différents milieux de culture a été obtenue.

La recherche de milieux de culture (milieu de culture d'entretien) capable de favoriser la conservation *in vitro* des vitroplants de la vitrothèque, pendant plusieurs mois, constitue notre préoccupation.

BIBLIOGRAPHIE

- AHOUSSOU, (N.). 1989. Etude de l'antracnose de l'igname (*D. alata*) provoqué par *Collectotrichum gloeosporioides*. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles. Uni. de Provence, Aix- Marseille, 97 p.
- AHOUSSOU, (N.) et (B.) TOURE. 1986. Quelques aspects du comportement des fragments de tubercule et de tige de *D. cayenensis-D. rotundata* et de *D. alata* L ; cultivés *in vitro*. IV congrès sur la protection de la Santé Humaine et des Cultures en milieu de culture tropical. Marseille, 2-4/ 7 / 1986 : 15 - 19.
- ANONYME, 1991. Eléments du plan directeur agricole, Ministère de l'Agriculture et des Ressources Animales de Côte d'Ivoire (MINAGRA) : 1992-2010.
- ARNOLIN, (R.). 1985. Bouturage *in vitro*, en vue de la production de plants chez l'igname (*Dioscorea* sp. L). Thèse de Docteur 3è cycle. Uni. de Paris Sud Centre d'Orsay. N° d'ordre: 3949, 135 p.
- COULIBALY, (M. Y.). 1986. Culture *in vitro* chez le riz, *Oryza sativa* L. Recherche d'un système cellulaire permettant la néoformation de plantes à partir de protoplastes. Thèse de Docteur es Sciences Naturelles. Uni. de Paris Sud Centre d'Orsay, 175 p.

- DEGRAS, (L.), (R.) ARNOLIN, (A.) POITOUT, et (C.) SUARD. 1977. Quelques aspects de la biologie des ignames (*Dioscorea* sp.) ; dans Les ignames et leur culture. Ann. Amélior. Plantes 27 (1) : 1-23.
- DOUKOURE, (S.). 1985. Mise au point d'une technique de multiplication végétative du cv Florido (*D. alata*) par la culture *in vitro*. Mémoire de DEA Ecologie Tropicale. Uni. Nat. de Côte-d'Ivoire, 50 p.
- DOUKOURE, (S.). 1990. Production de tubercules semences à partir de vitroplants des cultivars Florido et Brazo fuerté de *D. alata*. Compte rendu du séminaire national sur l'igname. 28-30 Nov. 1990. Uni. Nat. de Côte-d'Ivoire, 47-48.
- DOUKOURE, (S.) et (B.) TIO-TOURE. 1993. Effet de l'hypochlorite de calcium dans la stérilisation des explants primaires en culture *in vitro* chez *D. alata*. L.-Ann. Uni. Abidjan-Série C (Sciences Naturelles et Biologiques)-Tome XXV-B, 67-78.
- DOUKOURE, (S.). 2000. Amélioration de la production de l'igname, par bouturage *in vitro*, chez les cultivars Florido et Brazo fuerte de *D. alata* L. Thèse de Doctorat-Ingénieur. Uni. de Cocody, Côte d'Ivoire, 123 p.
- FERROL, (L.). 1978. Multiplication végétative et élimination des phénomènes dégénérescences chez des clones de manioc (*Manihot esculenta* G.) cultivés *in vitro*. Thèse de 3^e cycle_ Uni. de Paris Sud- Centre d'Orsay, 91 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 - tenu à Yamoussoukro du 22 -26/ 11/ 1993, 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. Ecole Polytechnique Fédérale Zurich, 136 p.
- GRIVET, (L.). 1990. Conservation *in vitro* d'une collection de cultivars du complexe *D. cayenensis-D. rotundata*. Compte rendu du Séminaire National sur l'igname. Uni. Nat. de Côte-d'Ivoire. Abidjan, 28-30 Nov. 1990, 17 - 19.
- HELLER, (R.). 1953. Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles, Paris.
- HENDERSON, (J.M.) et (J.P.) NITSCH. 1962. Effect of certain phenolic acids on the elongation of avena first internodes in the presence of auxines and tryptophan. Nature 195 : 780 - 782.
- MALAUURIE, (B.), (F.) TARDIEU and (J.C.) THOUVENEL. 1988. Rapid production of disease free germplasm of *Dioscorea* sp (monocotyledons). Poster C 151. Improving an important tropical root crops yam (*Dioscorea* sp) using biotechnology. Poster C 152. 8th International Biotechnology Symposium Paris, Abstract Book, 248 p.
- MANTELL, (S. H.), (S. Q.) HAQUE and (A. P.) WTHTEHALL. 1978. Clonal multiplication of *D. alata* L. and *D. rotundata* Poir. yams by tissue culture. J. of Hort. Sci. 53 : 95 - 98.
- MIEGE, (J.), 1952. Contribution à l'étude systématique de *Dioscorea* Ouest africaines. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles-Paris, 266 p.
- MURASHIGE, (T.) and (F.) SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant, 15 : 473 - 497.
- NOZERAN, (R.) et (L.) BANCILHON. 1972. Les cultures *in vitro* en tant que techniques pour l'approche des problèmes posés par l'amélioration des plantes. Ann. Amélior. des plantes. 22 (2) : 167-185.
- RODRIGUEZ, (A.V.). 1995. Production de vitroplants sains de manioc : cas d'une variété de culture Congolaise (Moudouma). Agron, AFR, VII (2) : 89-165.
- STOM, (D. J.). 1982. Effect of polyphenols on shoot and root growth and on seed germination. Physiol. plant - 24 : 1 - 6.
- WHITE, (P. R.). 1943 ; A hand-book of plant tissue culture. Cattel J. Press, Lancaster, Pennsylvania.
- ZOUNDJIHEKPON, (J.). 1982. Influence de la culture *in vitro* sur les caractéristiques de la plante chez *Manihot esculenta* (Grantz). Mémoire de DEA (Écologie Tropicale) Uni. d'Abidjan, 86 p.
- ZOUNDJIHEKPON, (J.). 1993. Biologie de la reproduction et génétique des ignames cultivées de l'Afrique de l'Ouest, *Dioscorea cayenensis-D. rotundata*. Thèse de Docteur es Sciences Naturelles- N° d'ordre : 194 - Université Nationale de Côte d'Ivoire, 306 p.
- ZOUNDJIHEKHON, (J.), HAMON, (P.), AHOUSSOU, (N.), DOUKOURE, (S.), TIO-TOURE, (B.) et (S.) HAMON. 1995. Biotechnologies et gestion des ressources génétiques des ignames africaines. 5^e journées Scientifiques de l'AUFELF-UREF, Dakar (Sénégal) du 13 au 15 Décembre 1995, 18 p.