



ESJ Natural/Life/Medical Sciences

Influence de la BAP et de l'ANA sur l'évolution des teneurs en sucres solubles et acides aminés totaux dans les tiges des vitroplants du *Manihot esculenta* Crantz variété TMS 96/1762 au cours de la régénération *in vitro* directe

Eliau Hubert Dieu Béni

Laboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, Ecole Normale Supérieure de Yaoundé, Université de Yaoundé 1. BP: 47, Yaoundé, Cameroun

Département de l'Agriculture, Institut Supérieur de Développement Rural, Université de Bangui, BP: 1450, Bangui, République Centrafricaine

Fotso

Département de Biologie, Ecole Normale Supérieure de Bamili, Université de Bamenda, BP: 39, Bamenda, Cameroun

Touckia Gorgon Igor

Djamndo Djasbé Mathurin

Département de l'Agriculture, Institut Supérieur de Développement Rural, Université de Bangui, BP: 1450, Bangui, République Centrafricaine

Djeuani Astride Carole

Département de Biologie et Physiologie Végétales, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé 1, Cameroun

[Doi:10.19044/esj.2022.v18n11p102](https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n11p102)

Submitted: 19 November 2021

Accepted: 01 February 2022

Published: 31 March 2022

Copyright 2022 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND

4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Hubert Dieu Béni E., Fotso., Gorgon Igor T., & Astride Carole D., (2022). *Influence de la BAP et de l'ANA sur l'évolution des teneurs en sucres solubles et acides aminés totaux dans les tiges des vitroplants du Manihot esculenta Crantz variété TMS 96/1762 au cours de la régénération in vitro directe* European Scientific Journal, ESJ, 18 (11), 102.

<https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n11p102>

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de la BAP et de l'ANA sur les variations des teneurs en sucres solubles et acides aminés totaux dans les tiges des vitroplants du *Manihot esculenta* Crantz variété TMS 96/1762 au cours de la régénération *in vitro*. Pour ce faire, les bourgeons néoformés sur

microboutures sont isolés sous la hotte à flux laminaire. Ils ont été ensuite repiqués dans des tubes de cultures contenant le milieu de régénération, constitué de MB auquel on a ajouté 0,05/0,05 et 0,1/0,1 mg.l⁻¹ BAP/ANA. Les sucres solubles et les acides aminés totaux ont été extraits selon la méthode de Saha et Brewer (1994) modifiée. Le dosage des sucres solubles a été effectué selon la méthode de Saha et Brewer (1994). Les acides aminés ont été dosés à la ninhydrine selon la méthode de Yemm et Cocking (1995). Le milieu de culture favorable au microbouturage est le milieu MS + 0,1/0,1mg.l⁻¹ BAP/ANA qui a permis d'obtenir un nombre moyen de feuilles maximal de $6,44 \pm 1,89$. L'addition de BAP/ANA (0,05/0,05mg.l⁻¹) aux MB a entraîné une baisse de la teneur en sucres solubles. Elle est passée de 530,932 µg/g de PF au jour 7 à 507 µg/g de PF puis elle était devenue élevée jour 28 (684,152 µg/g de PF). L'utilisation de la combinaison BAP/ANA aux concentrations de 0,05/0,05 mg.l⁻¹ et de 0,1/0,1mg.l⁻¹ dans les MB a respectivement engendré des pics de la teneur en acides aminés totaux au jour 14 (101831,5 mg/g de PF) et au jour 28 (167948,7mg/g de PF).

Mots clés : ANA, BAP, vitroplants, sucres solubles, *Manihot esculenta*

Influence of BAP And NAA on the Evolution of Soluble Sugars and Total Amino Acids Contents in Stems of Manihot Esculenta Crantz Variety TMS 96/1762 During Direct in Vitro Regeneration

Eliau Hubert Dieu Béni

Laboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, Ecole Normale Supérieure de Yaoundé, Université de Yaoundé 1. BP: 47, Yaoundé, Cameroun

Département de l'Agriculture, Institut Supérieur de Développement Rural, Université de Bangui, BP: 1450, Bangui, République Centrafricaine

Fotso

Département de Biologie, Ecole Normale Supérieure de Bamili, Université de Bamenda, BP: 39, Bamenda, Cameroun

Touckia Gorgon Igor

Djamndo Djasbé Mathurin

Département de l'Agriculture, Institut Supérieur de Développement Rural, Université de Bangui, BP: 1450, Bangui, République Centrafricaine

Djeuani Astride Carole

Département de Biologie et Physiologie Végétales, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé 1, Cameroun

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of BAP and NAA on changes in soluble sugar and total amino acid contents in stems of Manihot esculenta Crantz variety TMS 96/1762 during *in vitro* regeneration. For this purpose, buds neoformed on microbuds were isolated under the laminar flow hood. They were then transplanted into culture tubes containing the regeneration medium, consisting of MB to which 0.05/0.05 and 0.1/0.1 mg.l⁻¹ BAP/ANA were added. Soluble sugars and total amino acids were extracted according to the modified method of Saha and Brewer (1994). The determination of soluble sugars was performed according to the method of Saha and Brewer (1994). Amino acids were assayed with ninhydrin according to the method of Yemm and Cocking (1995). The culture medium favorable for micro bottling was MS + 0.1/0.1mg.l⁻¹ BAP/ANA, which resulted in a maximum average leaf count of 6.44 ± 1.89. The addition of BAP/ANA (0.05/0.05mg.l⁻¹) to MB resulted in a decrease in soluble sugar content. It went from 530.932 µg/g FP on day 7 to 507 µg/g FP and then became high on day 28 (684.152 µg/g FP). The use of BAP/ANA combination at the

concentrations of 0.05/0.05 mg.l-1 and 0.1/0.1mg.l-1 in MB resulted in peaks in total amino acid content at day 14 (101831.5 mg/g FP) and day 28 (167948.7mg/g FP), respectively.

Keywords: NAA, BAP, soluble sugars, vitroplants, *Manihot esculenta*

Introduction

Le manioc (*Manihot esculenta* Crantz), de la famille des Euphorbiaceae, est une plante à tubercules de grande importance alimentaire, économique et socioculturelle dans le monde tropical et particulièrement en Afrique Centrale (Raffaillac, 1997). Il est consommé pour ses feuilles et ses racines (Betiku *et al.*, 2011 ; Gnonlonfin *et al.*, 2011; Famurewa *et al.*, 2013; Koko *et al.*, 2014). Il occupe la cinquième place mondiale en source d'hydrates de carbone avec une production annuelle de 250 millions de tonnes en 2014 (FAO, 2014). Le Nigéria occupe la première place avec une production annuelle de 52 millions de tonnes; le Cameroun se classe en seizième position avec une production s'élevant à 4,1 millions de tonnes en 2011 (FAO, 2014).

Les projections démographiques prévoient que la population mondiale qui est actuellement de six milliards pourrait atteindre huit milliards en 2030 (FAO, 2006). Face à cette pression, la promotion des cultures fortement productives, résistantes et ayant une bonne valeur nutritive, est une alternative au problème de la faim. Le manioc répond à ces exigences. Les agriculteurs cultivent souvent le manioc après d'autres cultures vivrières, car il s'adapte bien à la pauvreté des sols africains, sans apport d'engrais chimiques (Benesi, 2005).

Cependant, le caractère essentiellement allogame du manioc et l'absence des méthodes de multiplication végétative efficace handicapent la vulgarisation des génotypes d'élites. Ainsi en milieu paysan, les rendements obtenus sur le terrain sont de l'ordre de 6 à 8 t/ha contre 30 à 40 t/ha dans les stations de recherche où sont cultivées des variétés améliorées. Cette variation du rendement est due aux contraintes liées à la production, en particulier des dégâts causés par les microorganismes pathogènes responsables des maladies foliaires qui entraînent des pertes (Ambang *et al.*, 1997).

Pour pallier à ces contraintes, la culture *in vitro* reste une voie possible pour l'amélioration de cette espèce. La multiplication *in vitro* est une technique de multiplication qui permet de disposer rapidement de matériel de plantation de bonne qualité sanitaire (Omokolo *et al.*, 2001). Ces qualités sont recherchées dans le cadre de la multiplication rapide de nouvelles variétés sélectionnées et du renouvellement de plantations. Les sucres sont des

polyalcools portant des fonctions aldéhydes ou cétones. Ils assurent à la fois la fonction de nutrition et de constituants de la paroi. Ainsi, en culture *in vitro*, le sucre est généralement addition au milieu de base. En plus de son rôle de source de carbone, il participe du potentiel osmotique du milieu de culture (Gaspar, 1988). De plus, les glucides représentent le constituant majeur des parois cellulaires des végétaux (Cassab, 1998). Les acides aminés sont les sous-unités constitutives des protéines et représentent un élément essentiel des milieux de culture cellulaire. Cette étude a été réalisée dans l'objectif d'évaluer l'effet de la BAP et de l'ANA sur les teneurs en sucres solubles et acides aminés totaux dans les tiges des vitroplants du Manihot esculenta Crantz variété TMS 96/1762 au cours de la régénération *in vitro* directe.

Matériel et Méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal a été constitué de boutures de manioc de la variété TMS 96/1762 âgées de 2 mois. Ces boutures ont été obtenues auprès de l'IITA de Nkolbisson à Yaoundé au Cameroun. Dans cet institut, les boutures ont été produites dans des sachets polyéthylène contenant de la terre arable.

Méthodes

Aseptisation

Le matériel a été lavé sous un courant d'eau de robinet pendant 10 minutes suivi d'un lavage sous un courant d'eau distillée pendant 2 heures puis aseptisé par trempage dans du Tween 20 à 1% pendant 5 minutes et dans l'hypochlorite de sodium 30% pendant 45 minutes. Ensuite, trois rinçages successifs de 5, 10 et de 15 minutes à l'eau distillée stérile ont été faits sous une hotte à flux laminaire horizontale (MECAPLEX) près d'une flamme d'un bec bunsen.

Production d'explants

Après aseptisation, des fragments de 1,5 cm ont été prélevés sur le matériel végétal reçu sous la forme de bouture. Ils ont servi d'explants pour la culture *in vitro*.

Condition de culture

Le milieu de base le plus indiqué pour la régénération et la croissance des explants de *Manihot esculenta* a été le milieu Murashige et Skoog (MS) (1962) complet auquel on a ajouté 20 g.l⁻¹ de saccharose, 8 g.l⁻¹ d'agar et 5 ml.l⁻¹ du complexe vitaminique de Morel et Wetmore (1951). Le pH du milieu a été ajusté à 5,6 (pH-mètre METROHM) à l'aide d'une solution de HCl 0,1

N ou de NaOH 1 N. Le milieu de culture a été reparti dans des tubes de culture de diamètre 25 mm et de hauteur 115 mm (SCHOTT) à raison d'environ 10 ml par tube et stérilisés par l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes, sous une pression de 1,6 Kg.cm⁻². Les ensemencements ont été faits sous une hotte à flux laminaire horizontale (MECAPLEX) près d'une flamme d'un bec bunsen. Avant la mise en culture, la partie basale de chaque explant dont les cellules ont été tuées par les solutions aseptisantes a été éliminée à l'aide d'un scalpel stérile. Les cultures ont été entreposées dans une chambre de culture où régissent les conditions suivantes : température: 26 ± 1 °C; éclairage lumière fluorescence (OSRAM) 80 mol.m⁻².s⁻¹; photopériode: 16/8.

Induction des bourgeons néoformés

Pour l'induction des bourgeons, différentes concentrations de phytohormones ont été testées comme suit :

- ANA : 0; 0,05 ; 0,1 et 0,2 mg.l⁻¹,
- BAP : 0; 0,05 ; 0,1 et 0,2 mg.l⁻¹.

Les tubes ensemencés ont été scellés avec du parafilm, puis déposés dans une salle de culture à la température de 26 ± 1 °C sous un éclairage de 80 μmol/m²/s⁻¹ pendant 16 heures par jour (tubes fluorescents blancs OSRAM). Trente explants ont été mis en culture pour chaque concentration d'ANA ou BAP et l'expérience a été répétée quatre fois. A la fin des cultures qui ont duré 56 jours, le pourcentage des microboutures ayant développés des bourgeons a été enregistré dans chaque cas. De même, le nombre moyen des bourgeons formés par microbouture a été noté.

Régénération des vitroplants à partir des bourgeons néoformés

Les bourgeons néoformés sur microboutures ont été isolés sous une hotte à flux laminaire. Ils ont été ensuite repiqués dans des tubes de cultures contenant le milieu de régénération, constitué de MB auquel ont été ajoutées différentes doses de combinaison BAP/ANA (0,05/0,05; 0,1/0,1 mg.l⁻¹). Le pH de tous les milieux a été ajusté à 5,6. Les tubes ensemencés ont été scellés avec du parafilm, puis déposés dans une salle de culture à la température de 26 ± 1 °C sous un éclairage de 80 μmol.m².s⁻¹ pendant 16 heures par jour (tubes fluorescents blancs OSRAM). Pour chaque rapport en BAP/ANA, trente bourgeons formés ont été repiqués et l'expérience a été reprise quatre fois. Les observations ont été faites tous les 7 jours pendant 90 jours. A cette date, les paramètres de croissance (taille moyenne des plantules; nombre moyen de feuilles nouvellement formées par plantule) ont été enregistrés.

Extraction et dosage des sucres solubles et des acides aminés totaux

Extraction

Les sucres solubles et les acides aminés totaux ont été extraits selon la méthode de Saha et Brewer (1994) modifiée. Le matériel végétal (tige) a été broyé dans de l'éthanol 80 % (0,3 g de matériel biologique pour 1,5 ml d'éthanol 80 %). L'extrait obtenu a été centrifugé à 3500 tours/min pendant 30 min. Le surnageant constitue l'extrait brut des sucres solubles et des acides aminés totaux. Les surnageants ont été récupérés dans des tubes Eppendorfs et conservés à -20 °C pour les dosages.

Dosage des sucres solubles

Le dosage des sucres solubles a été effectué selon la méthode de Saha et Brewer (1994). La solution d'anthrone a été constituée de 710 ml de H₂SO₄ concentré, 290 ml d'eau distillée et de 1 g d'anthrone. Le mélange réactionnel a été constitué de 4 ml de la solution d'anthrone, 20 µl d'extrait qui ont été portés au bain-marie à 80°C pendant 20 mn. Après refroidissement (dans de la glace fondante), l'absorbance de la solution verte du complexe furfural obtenu a été lue à 620 nm au spectrophotomètre. La teneur en sucres totaux a été évaluée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec du glucose.

Dosage des acides aminés totaux

Les acides aminés ont été dosés à la ninhydrine selon la méthode de Yemm et Cocking (1955). Pour le dosage, le mélange réactionnel contenant dans l'ordre 0,5 ml d'éthanol, 0,5 ml de tampon citrate (0,2 M ; pH 5), 1 ml de solution acétonique de ninhydrine KCN (1 % (m/v) de ninhydrine et 0,06 % (m/v) de KCN) et 25 µl d'extrait alcoolique a été porté au bain marie bouillant pendant 15 minutes puis refroidit dans de la glace fondante. 4ml d'eau distillée ont été ensuite ajoutées. L'absorbance du mélange a été lue à 570 nm au spectrophotomètre. La teneur en acides aminés a été évaluée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec une gamme de concentration de glycine pure variant de 0,5 à 60 µg/µl.

Analyses statistiques

Toutes les données obtenues après différentes analyses biochimiques ont fait l'objet d'une analyse par ANOVA, en utilisant le logiciel SPSS 20 pour Windows. Le test de Tukey a été utilisé pour déterminer toute différence significative entre les différentes variétés au seuil de $p < 0,05$. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyennes \pm l'écart-type. Toutes les expériences ont été réalisées en quatre répétitions.

Résultats

Effet de l'ANA et de la BAP sur la prolifération des bourgeons

La prolifération des bourgeons sur les microboutures a été obtenue après 28 jours de culture. Les bourgeons se sont formés principalement au niveau du nœud de la microbouture, au voisinage axillaire préexistant (Figure 1A). Le pourcentage de microbouture qui a développé les bourgeons et le nombre moyen des bourgeons néoformés par microbouture ont varié en fonction de la concentration de l'ANA et de la BAP (Figure 1B).

Avec l'ANA, le pourcentage de bourgeonnement est passé de 8,1 % à un maximum de 89,3 %, respectivement avec les concentrations de 0,05 mg.l⁻¹ (Figure 1C) et de 0,1 mg.l⁻¹ (Figure 1D). Au-delà de cette concentration de 0,1 mg.l⁻¹, ce pourcentage a baissé et a atteint un minimum de 53,8 % avec 0,2 mg.l⁻¹ ANA. Le nombre moyen des bourgeons formés par cal a varié de 1,9 bourgeon à un maximum de 3,5, respectivement avec 0,05 mg.l⁻¹ et 0,1 mg.l⁻¹ ANA. Au-delà de cette concentration, ce nombre a baissé et a atteint une valeur minimale de 2,8 bourgeons par cal avec 0,6 mg.l⁻¹ ANA (Tableau I).

La concentration de 0,05 mg.l⁻¹ de BAP (Figure 1E) et celle de 0,1 mg.l⁻¹ de BAP (Figure 1F) ont respectivement exprimé des pourcentages de bourgeonnement de 70,2 % et de 100 %. Au-delà de la concentration de 0,1 mg.l⁻¹ de BAP, le pourcentage a baissé et a atteint un minimum de 39,2 % avec 0,2 mg.l⁻¹ BAP. Le nombre moyen des bourgeons par microbouture a varié de 2,1 bourgeons avec 0,05 mg.l⁻¹ BAP à un maximum de 4,3 avec 0,1 mg.l⁻¹ BAP. Au-delà de cette concentration, ce nombre baisse et atteint un minimum de 1,2 bourgeon par microbouture avec 0,2 mg.l⁻¹ BAP (Tableau I).

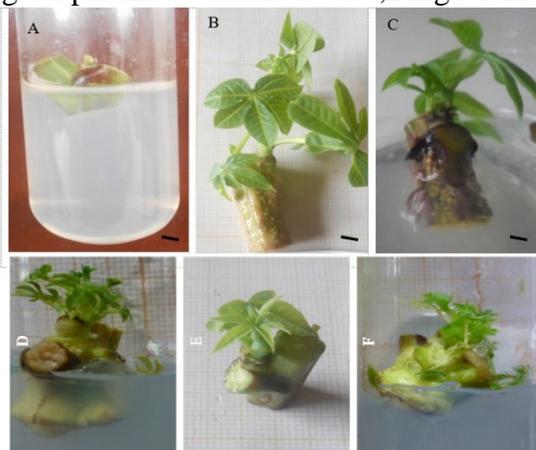


Figure 1. Aspects morphologiques des explants en fonction des traitements appliqués chez le clone 96/1762 après 28 jours de culture.

Explant dans le milieu témoin (A), Débourrement de l'explant (B), Explant dans 0,05 mg/l ANA (C), explant dans 0,1 mg/l ANA(D), explant dans 0,05 mg/l BAP (E), Explant dans 0,1 mg/l BAP (F). Barre = 0,5 cm.

Tableau I. Effet de l'ANA et de BAP sur le débourrement des explants et le nombre moyen des bourgeons néoformés par microbouture de la variété TMS 96/1762 de *Manihot esculenta*

Concentrations des phytohormones (mg.l ⁻¹)		Pourcentage des explants bourgeonnants (%)	Nombre moyen des bourgeons néoformés par microbouture
Témoin	0	2,5	0,6
	0,05	8,1 ^c	1,9 ^c
ANA	0,10	89,3 ^a	3,5 ^a
	0,20	53,8 ^b	2,8 ^b
	0,05	70,2 ^b	2,1 ^c
BAP	0,10	100,0 ^a	4,3 ^a
	0,20	39,2 ^c	1,2 ^b

Les valeurs qui portent la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes d'après le test de Tukey $p < 0,05$.

Effet de BAP, d'ANA et des combinaisons BAP/ANA sur la régénération des vitroplants à partir des bourgeons néoformés

Les bourgeons néoformés sur les microboutures ont été isolés et repiqués sur le milieu MS contenant les différentes concentrations de BAP, d'ANA et la combinaison BAP/ANA. Tous les bourgeons repiqués ont repris la croissance après 6 jours. Les meilleurs développements des feuilles ont été observés avec 0,05 mg.l⁻¹ ANA ou BAP ou BAP/ANA au 28ème jour après les traitements (Tableau II).

Tableau II. Effet de BAP, d'ANA et de BAP/ANA sur le nombre moyen de feuilles après 28 jours de traitement

Traitements	Concentrations	Jours après traitement (JAT)			
		7	14	21	28
Témoin	0	1,40±1,68 ^b	3,01±0,00 ^b	3,50±0,25 ^b	3,82±3,22 ^c
ANA	0,05	2,60±1,40 ^a	3,00±0,00 ^b	3,50±1,15 ^b	5,10±2,50 ^b
	0,1	1,75±1,15 ^b	2,25±1,06 ^c	3,50±0,35 ^b	3,75±2,50 ^c
BAP	0,05	2,64±1,11 ^a	3,92±1,03 ^a	4,92±2,23 ^a	5,84±0,38 ^b
	0,1	2,20±1,05 ^a	3,46±0,35 ^a	4,73±3,08 ^a	5,66±2,09 ^b

BAP/ANA	0,05/0,05	2,31±2,05 ^a	3,22±1,01 ^a	4,77±2,01 ^a	6,44±1,89 ^a
	0,1/0,1	2,11±1,21 ^a	2,82±2,21 ^b	3,41±1,91 ^b	4,21±0,38 ^c

Les valeurs qui portent la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes d'après le test de Tukey $p < 0,05$.

Effet de l'ANA, de la BAP et de la combinaison BAP/ANA sur la teneur en sucres solubles

En l'absence de tout traitement, la teneur en sucre soluble a atteint un pic au jour 14 puis a baissé au cours de l'essai jusqu'au jour 28. En présence d'ANA (0,05 mg.l⁻¹), une diminution a été observée. Elle est passée de 582,871 µg/g de PF (poids frais) au jour 7 à 196,214 µg/g de PF au jour 28. Par contre, avec ANA (0,1mg.l⁻¹) on a observé une progression au cours du temps. Elle est passée de 190,443 µg/g de PF au jour 7 à 727,331 µg/g de PF au jour 28 (Figure 2). Lorsque le milieu a été additionné de BAP (0,05 mg.l⁻¹), la teneur en sucre soluble a entraîné une progression au cours du temps (Figure 2). Cette même tendance a été observée au jour 14 (216,925 µg/g de PF) et au jour 28 (488,919 µg/g de PF). L'addition de la combinaison BAP/ANA (0,05/0,05mg.l⁻¹) aux milieux de base a entraîné une baisse. Elle est passée de 530,932 µg/g de PF au jour 7 à 507 µg/g de PF puis elle était devenue élevée jour 28 (684,152 µg/g de PF). Il a été observé des pics au jour 14 (802,169 µg/g de PF) et au jour 28 (865,651 µg/g de PF) lorsqu'il s'agissait de la combinaison BAP/ANA (0,1/0,1 mg.l⁻¹).

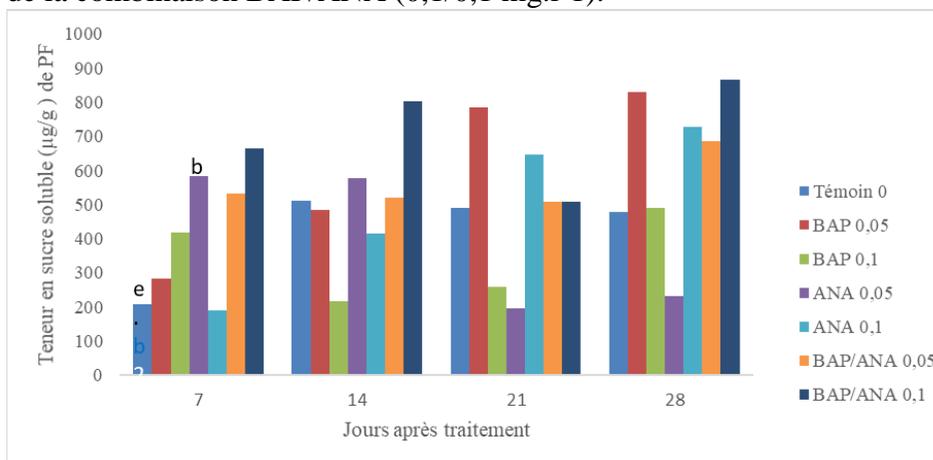


Figure 2. Variation au cours du temps de la teneur en sucre soluble dans les tiges de *M. esculenta* à différents traitement aux phytohormones

Pour chaque délai, les bandes qui portent la même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Turkey $p < 0,05$.

Effet de l'ANA, de la BAP et de la combinaison BAP/ANA sur la teneur en acides aminés totaux

En l'absence de tout traitement, la teneur en acides aminés totaux est élevée au jour 14 (93833,94 mg/g de PF) et au jour 28 (160683,7mg/g de PF).

En présence d'ANA on a noté des pics au jour 7 (139377,3mg/g de PF) avec (0,05 mg.l⁻¹) et au jour 14 (109523,5mg/g de PF). L'ajout de 0,05 mg.l⁻¹ BAP a entraîné une régression de la teneur en acides aminés totaux au cours du temps. Elle est passée de 131074,5 mg/g de PF au jour 7 à 78876,67 mg/g de PF au jour 28. Avec 0,1 mg.l⁻¹, un pic a été observé au jour 21 (85897,43mg/g de PF).

En présence d'ANA, une régression de la teneur en aminés totaux a été observée. Elle est passée de 1,61±0,06 mg/g de PF au jour 7 à 0,08±0,06 mg/g de PF au jour 14 puis a augmenté légèrement au jour 21 (0,14±0,10mg/g de PF). L'utilisation de la combinaison BAP/ANA aux concentrations de 0,05/0,05 mg.l⁻¹ et de 0,1/0,1mg.l⁻¹ dans les milieux de base a respectivement engendré des pics au jour 14 (101831,5 mg/g de PF) et au jour 28 (167948,7mg/g de PF).



Figure 3. Variation au cours du temps de la teneur en acide aminé soluble dans les tiges de *M. esculenta* à différents traitements aux phytohormones
Pour chaque délai, les bandes qui portent la même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Turkey p<0,05

Discussion

La micropropagation par bourgeonnement adventif indirect chez *Manihot esculenta* a été réalisée en utilisant les fragments uninodaux. Le choix de ces organes pour le bourgeonnement indirect a été crucial en culture *in vitro*, car la nature de l'explant oriente l'organogenèse *in vitro* (Oumar *et al.*,

2001; Fotso, 2005; Elian, 2008; Elian, 2017). Les résultats de la présente étude ont montré qu'il a été possible d'induire *in vitro* le développement des bourgeons axillaires chez *Manihot esculenta* Crantz, en présence de BAP, d'ANA et de la combinaison BAP/ANA. Des résultats similaires ont été obtenus par Elian (2017) lors d'une étude menée sur la micropropagation des cultivars de manioc. Par contre, pour Fotso *et al.* (2001), le bourgeonnement maximal sur les apex d'*Ananas comosus* ne peut être obtenu qu'en combinant la BAP et l'ANA.

Il a été observé que le taux de débourrement des bourgeons axillaires de *M. esculenta* a été significativement influencé par la BAP. La BAP a pour rôle d'induire la formation des bourgeons axillaires tout en diminuant la dominance apicale et d'accroître les divisions cellulaires (Boulay, 1984). D'après les résultats obtenus, les bourgeons axillaires pouvaient débourrer et se développer sur milieu de base MS sans phytohormones. Les mêmes observations ont été faites chez *Xanthosoma sagittifolium* (Omokolo *et al.*, 1995); *Ananas comosus* (Omokolo *et al.*, 2001). Ce débourrement des bourgeons axillaires sur milieu MS sans phytohormones peut être attribué à la thermopériode et la photopériode de la chambre de culture. Pour ce qui a été du faible taux de débourrement des explants au cours de ce travail, il pouvait être dû au fait que beaucoup d'explants mis en culture n'arrivaient pas à se développer pour des questions de compétition.

La régénération des plantules a été obtenue sur les milieux MS additionnés aux différentes concentrations des phytohormones (BAP et ANA). Les résultats obtenus ont montré que le milieu de culture favorable au microbouturage a été la combinaison de 0,1/0,1 mg.l⁻¹ BAP/ANA qui a permis d'obtenir un nombre moyen des feuilles maximal de $6,44 \pm 1,89$. Ces résultats obtenus ont corroboré avec ceux de Smith *et al.* (1986) qui affirmaient que pour la multiplication *in vitro* du manioc, un milieu avec phytohormone est nécessaire. Ces résultats ont été également en parfait accord avec ceux des travaux de Elian (2017); Mabanza et Jonard (1984).

Les teneurs en sucres solubles et en acides aminés totaux dans les tiges variaient en fonction des traitements appliqués au cours du temps. Des teneurs élevées dans les milieux présentant le maximum de nombre moyen de feuilles ont été observées. Par contre les milieux ayant les valeurs minimales de nombre moyen de feuilles s'accompagnent généralement de teneurs minimales en sucres solubles. Ces résultats ont corroboré avec ceux de Rosa *et al.* (2009) qui ont montré que de fortes concentrations en sucres sont dues à un métabolisme photosynthétique important des plantes. Les travaux de Reedy

(1996) ont prouvé qu'une baisse de teneurs en sucres est due à celle de l'activité photosynthétique.

La teneur en acides aminés totaux dans les tiges a augmenté au cours du temps. Les fortes teneurs en acides aminés s'accompagnent des faibles teneurs en sucres dans les tiges issus de vitroplants. Ceci pourrait signifier que les vitroplants, face à divers agents stressants, privilégient les formes de réserves sous forme de protéines que celles sous forme de glucides pour mieux résister aux pathogènes (Yeol et Chaw, 1982).

Conclusion

Le bourgeonnement adventif direct constitue un des processus qui peuvent être exploités pour la régénération et la propagation du manioc. La prolifération des bourgeons sur microboutures a été obtenue avec ANA, BAP et la combinaison BAP/ANA. L'obtention des vitroplants à partir de ces bourgeons a également nécessité un équilibre entre la BAP et l'ANA. Les analyses biochimiques montrent que l'effet des phytohormones sur les teneurs en sucres solubles baisse avec le temps alors que celles des acides aminés totaux dans les tiges augmentent avec le temps.

References:

1. Ambang, Z., Akoa, A., Bekolo, N., Nantia, J., Bouquet, SY et Ongono. (1997). Tolérance de quelques cultivars de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) et de l'espèce sauvage (*Manihot glagiovii*) à la mosaïque virale africaine et à la cercosporiose du manioc. *Tropicicultura*, 25(3), 140-145.
2. Betiku, E et Alade, OS. (2011). Investigation of effects of different cassava cultivars with respect to hydrogen cyanide content on their starch hydrolysis. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 5(6), 2362-2370.
3. Boulay, M. (1984). Aspects pratiques de la multiplication *in vitro* des essences forestières, *Appl. Rech. Sylv.* 54, 63-66.
4. Cassab GI. (1998). Plant cell wall proteins. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 49 : 281-309 pp.
5. Elian, HDB. (2017). Micropropagation du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) et évaluation des marqueurs biochimiques de résistance à *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Thèse de doctorat/Ph.D. Université de Yaoundé I. 143p.
6. Elian, HDB. (2008). Potentialités de la production des semences chez *Ananas comosus* Merril. Var. *Cayenne* par les techniques de culture *in vitro*. Mémoire de DEA. Université de Yaoundé I. 33p.

7. Famurewa, JAV., Oluwamukomi, MO and Alaba, JO. (2013). Effect of different drying methods on the physicochemical characteristics of cassava flour (“pupuru”), *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(2), 832-839.
8. FAO. (2006). *Manioc: perspectives de l'alimentation et analyse de marchés mondiaux*. 196p.
9. FAO. (2014). *Les données mondiales des produits alimentaires*, FAOST., 2p.
10. Fotso, Tita, MA., Niemenak, N et Omokolo, ND. (2001). Multiplication *in vitro* de l'Ananas (*Ananas comosus*) à partir des apex. *Biosciences Proceedings*, 8, 124-130.
11. Fotso. (2005). *Organogenèse in vitro de quelques espèces forestières à usage multiples*. Thèse de doctorat d'Etat. Université de Yaoundé I. 160p.
12. Gaspar. (1988). Multiplication végétative des plantes supérieures par culture *in vitro*. In : Zryd (ed) : *Culture des Cellules, Tissus et Organes Végétaux : Fondements théoriques et utilisations Pratiques*. Presses polytechniques romandes (France) pp. 31-49.
13. Gnonlonfin, GJB., Koudande, DO., Sanni, A and Brimer, L. (2011). Farmers' perceptions on characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties used for chips production in rural areas in Benin, West Africa, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 5(3), 870-879.
14. Koko, CA., Kouame, BK., Assidjo, E and Amani, G. (2014). Characterization and utilization of fermented cassava flour in breadmaking and placali preparation. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 8(6), 24782493.
15. Mabanza, J et Jonard, R. (1984). Essai d'isolement des clones de manioc (*Manihot esculenta*) en vue d'isoler ultérieurement les clones résistants à la bactériose. *Bulletin De La Société Botanique*, 131, 91-95.
16. Morel, G and Wetmore, RH. (1951). Fern callus tissues culture. *Ann. J. Bot.*, 38, 141-143.
17. Murashige, T and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Planta*. 15, 473-497.
18. Omokolo, ND., Fotso., Tita, MA et Niemenak, N. (2001). Régénération directe *in vitro* d'*Ananas comosus* (L) Merrill var. Cayenne à partir des couronnes cultivées en milieu liquide. *Fruits*, 56 (6), 415-421.

19. Omokolo, ND., Tsala, NG., Kanmegne, G and Balange, AP. (1995). *In vitro* induction multiple shoots, plant regeneration and tuberization shoots tips of cocoyam. C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie, 328, 773-778.
20. Oumar., Fotso et Omokolo, ND. (2001). Données préliminaires sur la morphogenèse *in vitro* chez *Irvingia gabonensis* et *Irvingia wombolu*. Biosciences proceedings. 8:173-177.
21. Raffailac, JP. (1997). Le manioc : quelles priorités de recherche pour améliorer la production en relation avec la commercialisation? Les Cahiers de la Rech. Dév. 43, 7-19.
22. Reddy, AR. (1996). Fructose 2, 6-bisphosphate-modulated photosynthesis in sorghum leaves grown under low water regimes. Phytochem. 43, 319-322.
23. Rosa, M., Hilal, M., Gonsalez, JA and Prado, FE. (2009). Low-temperature effect on enzyme activities involved in sucrose-starch partitioning in salt-stressed and salt-acclimated cotyledons of quinoa (*Chemopodium quinoa* willd.) seedlings. Plant physiol. Biochem. 47, 300-307.
24. Saha, AK. and Brewer, F. (1994). Determination of the concentrations of oligosaccharides, complex type carbohydrates and glycoproteins using the sulfuric acid method. Carbohydrates. Res. 254, 154-167.
25. Smith, MK., Biggs, BJ & Scott, KJ. (1986). *In vitro* propagation of cassava. Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.. 6 (3), 221-228.
26. Yemm, EW and Cocking, EC. (1955). The determination of amino acids with ninhydrin. Analytical, 80: 209-213.
27. Yeol, H and Chaw, MY. (1982). Protein content and amino acid composition of cassava leaf. Phytochem. 15, 1597-1599.