

Étude des index d'ADN de huit espèces d'ignames (*Dioscorea* sp.) par cytométrie en flux

PERLA HAMON

Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement – Institut de recherches agronomiques tropicales et des cultures vivrières, Laboratoire BIOTROP, B. P. 5035, 34032 Montpellier CEDEX, France

JEAN-PAUL BRIZARD

Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM), Laboratoire Ressources génétiques et amélioration des plantes tropicales, B. P. 5045, 34032 Montpellier, France

JEANNE ZOUNDJIHÉKPON

Laboratoire de génétique, Faculté des sciences et techniques, 22 B. P. 582, Abidjan 22, Côte-d'Ivoire

CHRISTOPHE DUPERRAY

Institut national de la santé et de la recherche médicale, Service commun de cytométrie en flux, Unité 291, 99, rue Puech Villa, 34090 Montpellier, France

ET

ALAIN BORGEL

Mission ORSTOM, B. P. 1386, Dakar, Sénégal

Reçu le 23 décembre 1991

HAMON, P., BRIZARD, J.-P., ZOUNDJIHÉKPON, J., DUPERRAY, C., et BORGEL, A. 1992. Étude des index d'ADN de huit espèces d'ignames (*Dioscorea* sp.) par cytométrie en flux. *Can. J. Bot.* **70** : 996–1000.

Neuf espèces (sauvages et cultivées) et quelques hybrides interspécifiques sauvage × cultivé ont été analysés par cytométrie en flux. L'étude confirme l'existence de séries polyploïdes essentiellement au sein des espèces cultivées. Les index d'ADN variaient, suivant le clone ou le cultivar analysé, d'un facteur de 1 à 3 chez le *Dioscorea alata*, de 1 à 2,25 chez le *Dioscorea bulbifera* et de 1 à 2 chez le *Dioscorea cayenensis-rotundata*. Chez les espèces sauvages, une seule valeur d'index d'ADN par espèce a été mise en évidence. Lorsque la correspondance entre le nombre de chromosomes et l'index d'ADN était possible, la taille du génome 1C a été évaluée en picogrammes et en paires de bases. Deux tailles de génome ont été mises en évidence : le génome A chez le *D. cayenensis-rotundata*, le *Dioscorea abyssinica*, le *Dioscorea mangelotiana* et le *Dioscorea praehensilis*, et le génome B chez le *Dioscorea togoensis*. Ces génomes sont de petite taille, à peine 1,5 à 2,1 fois plus grand que celui de l'*Arabidopsis*.

Mots clés : ignames, *Dioscorea*, cytométrie en flux, index d'ADN, taille du génome.

HAMON, P., BRIZARD, J.-P., ZOUNDJIHÉKPON, J., DUPERRAY, C., and BORGEL, A. 1992. Étude des index d'ADN de huit espèces d'ignames (*Dioscorea* sp.) par cytométrie en flux. *Can. J. Bot.* **70**: 996–1000.

Nine species (wild and cultivated) and some interspecific (wild × cultivated) hybrids were analysed by flow cytometry. This study confirms various polyploidy levels within cultivated species. DNA index varied by a factor of 1 to 3 for *Dioscorea alata*, 1 to 2.25 for *Dioscorea bulbifera*, and 1 to 2 for *Dioscorea cayenensis-rotundata*, depending on the clone or cultivar considered. In wild species, only one DNA index per species was obtained. Whenever a relationship between DNA index and chromosome number could be established, the size of genome 1C was evaluated in picograms and base pairs. Two genome sizes were observed: genome A in *D. cayenensis-rotundata*, *Dioscorea abyssinica*, *Dioscorea mangelotiana*, and *Dioscorea praehensilis* and genome B in *Dioscorea togoensis*. These genomes were small sizes, only 1.5 to 2.1 times larger than that of *Arabidopsis*.

Key words: yams, *Dioscorea*, flow cytometry, DNA index, genome size.

Introduction

L'igname, genre *Dioscorea*, est représentée par près de 600 espèces sauvages et cultivées réparties sur l'ensemble des continents (Knuth 1924). C'est une plante à tubercule dont la multiplication est exclusivement végétative chez les formes cultivées.

Ce genre se caractérise par de nombreux polyploïdes. On note des valeurs allant de $2n = 18$ à $2n = 140$ (Araki *et al.* 1983; Essad 1984).

Étant donné l'observation de la polyploïdie au niveau intraspécifique et le mode de multiplication végétatif de l'igname, il est particulièrement intéressant, dans le cadre de la gestion et de l'étude d'une collection, de pouvoir appréhender le niveau de ploïdie de l'ensemble des échantillons. Cependant, le dénombrement des chromosomes ne peut concerner qu'un nombre limité d'échantillons. Les chromosomes

sont de petite taille chez de nombreuses espèces et ils ont tendance à s'agglutiner, ce qui rend les comptages difficiles et les résultats quelquefois contradictoires (Henry 1967; Martin et Degras 1978; Essad 1984).

La cytométrie en flux permet, à partir des signaux de fluorescence émis par un fluorochrome spécifique de l'ADN, de mesurer la quantité d'ADN des noyaux. La teneur en ADN, évaluée en unités arbitraires (ua) permet de déduire, par rapport à un échantillon témoin, la valeur 2C en picogrammes de chaque échantillon et la taille du génome en paires de bases des espèces étudiées.

Cette méthode indirecte d'analyse des niveaux de ploïdie est largement employée dans le domaine médical (pour une revue, voir Muvihead *et al.* 1985). Son application chez les végétaux est plus récente (Galbraith *et al.* 1983; Petit *et al.* 1986; Bino *et al.* 1990).

TABLEAU 1. Index d'ADN chez le *D. alata*, le *D. bulbifera* et le *D. esculenta*

Index d'ADN par noyau (ua)	<i>D. alata</i>			<i>D. bulbifera</i>	<i>D. esculenta</i>	
	Bètè-bètè	Nza	Indéterminé	cultivé	Sauvage	Cultivé
200 ± 20	5	6	1			
250 ± 12	6	11	5			
285 ± 28				1	3	
305 ± 15	2	1				
380 ± 19						8
410		1		1		
480 ± 20		2		1	1	
580		1				
650				1		

NOTA : Chez ce espèce, il n'existe pas de catalogue descriptif des variétés cultivées. Cependant, les paysans baoulés du centre de Côte-d'Ivoire, distinguent chez le *D. alata*, deux groupes à partir de la présence ou l'absence d'anthocyanes au niveau de la jeune tige, du pétiole et des jeunes feuilles. Le groupe des Nza correspond aux cultivars pigmentés et celui des Bètè-bètè aux cultivars non pigmentés. Les échantillons dont la présence de pigments n'est pas franche constituent le groupe indéterminé.

Chez l'igname, les premières données moléculaires ont concerné l'ADN chloroplastique (Terauchi *et al.* 1989). Tout récemment, Arumuganathan et Earle (1991) ont analysé un échantillon de *D. alata* et obtenu la valeur de 1,15 pg d'ADN par noyau.

La présente étude porte sur l'analyse d'une collection *in vitro* de 135 échantillons dont 124 représentant neuf espèces (cinq sauvages et quatre cultivées) et neuf hybrides interspécifiques. Elle a pour but d'appréhender la diversité intra- et inter-spécifique des teneurs en ADN nucléaire et de faciliter la gestion des ressources génétiques. Elle conduit à des considérations évolutives au sein du genre.

Matériel et méthodes

Matériel

Les 135 échantillons étudiés sont conservés par microbouturage *in vitro* à l'ORSTOM (Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération) de Montpellier. Ces échantillons viennent pour la plupart de la collection vivante constituée en Côte-d'Ivoire par la Faculté des sciences et techniques et l'Institut des Savanes (I.DES.SA). Ils se répartissent en quatre espèces cultivées : *D. alata* (41), *D. bulbifera* (4), *D. cayenensis-rotundata* (48), *D. esculenta* (8); cinq espèces sauvages : *D. abyssinica* (3), *D. bulbifera* (4), *D. manganotiana* (11), *D. praehensilis* (2), *D. togoensis* (5) et neuf hybrides interspécifiques : *D. praehensilis* × *D. cayenensis-rotundata* cv. Krenglé. Toutes les plantes utilisées étaient au stade de 2 à 3 mois après repiquage.

Deux témoins ont été utilisés dans ces analyses : un témoin interne igname qui a servi au calibrage de l'appareil et un témoin riz (*Oryza sativa* type japonica) utilisé par la suite pour les calculs de taille du génome.

Analyse par cytométrie en flux

Une à deux feuilles d'environ 2 cm² de surface foliaire sont prélevées et découpées très finement à l'aide d'un scalpel dans 1 mL de tampon (Macro Murashige - Skoog, 10 mL; sorbitol, 9,1 g; thioglycolate de sodium, 0,56 g; pH ajusté avec hydroxyde de potassium à 7,05 - 7,1; eau distillée à 100 mL). Cette opération est réalisée à la température ambiante (19 - 20°C).

La suspension obtenue est filtrée à travers une membrane dont la maille est de 20 µm. Quarante microlitres de Triton à 10% et 80 µL d'iodure de propidium à 1 mg/mL sont ajoutés à 0,5 mL de filtrat. Après homogénéisation au vortex, la suspension est immédiatement analysée. Un appareil FACScan (Becton Dickinson, Mountain View, CA) et un laser à argon 15 mW à 488 nm ont été utilisés.

Dans cette étude, les coefficients de variation (CV) sont de l'ordre

de 7 à 10% pour chaque mesure, soit pour 1000 à 2000 noyaux par échantillon. Les teneurs en ADN par noyau sont présentées sous forme de moyennes (en ua) affectées des écarts maximums observés.

Calcul de la taille du génome

Les teneurs d'ADN (en pg) des différentes espèces d'ignames sont calculées d'après la relation

$$[1] \text{ ADN}_{\text{ign (pg)}} = \frac{\text{ADN}_{\text{riz (pg)}} \cdot \text{ADN}_{\text{ign (ua)}}}{\text{ADN}_{\text{riz (ua)}}$$

avec $\text{ADN}_{\text{riz (pg)}} (2n = 2x) = 0,885 \text{ pg}$ (moyenne des valeurs indiquées par Arumuganathan et Earle 1991).

En tenant compte des dénombrements chromosomiques réalisés par différents auteurs (voir tableau 3 et étant donné la relation 1 pg = $0,965 \times 10^9$ pb (Strauss 1971 dans Bennett et Smith 1976), on peut évaluer la teneur en picogrammes puis en paires de bases du génome 1C de ces différentes espèces.

Dans cette étude, ne connaissant pas l'origine génétique (auto- ou allo-ployploïde) des formes les plus hautement polyploïdes du *D. cayenensis-rotundata*, nous avons évalué la teneur 1C moyenne en picogrammes et en paires de bases uniquement chez les formes tétraploïdes pour lesquelles les dénombrements ont été faits.

Résultats

Index d'ADN

Ne disposant pas, pour chaque espèce, d'un témoin à nombre de chromosomes connu, il ne nous paraît pas justifié de parler de niveau de ploïdie dans cette partie. En accord avec Brown *et al.* 1991, nous avons adopté le terme d'index d'ADN pour désigner des teneurs en unités arbitraires.

L'analyse de 41 échantillons du *D. alata* révèle 6 niveaux de concentration s'échelonnant entre 200 et 580 ua. Cependant, les teneurs les plus faibles, 200 et 250 ua, sont les plus fréquentes (34 échantillons sur 41; tableau 1).

Contrairement au *D. esculenta* homogène quant à l'index d'ADN, le *D. bulbifera* affiche une variabilité importante. Quatre teneurs en ADN sont mises en évidence à partir de huit échantillons cultivés et sauvages (tableau 1).

Les 48 échantillons du *D. cayenensis-rotundata* étudiés se répartissent en trois niveaux de concentration en ADN (tableau 2).

La polyploïdie s'observe aussi bien pour les variétés de Côte-d'Ivoire que pour celles du Cameroun, deux pays extrêmes de la zone de culture de l'igname en Afrique de

TABLEAU 2. Index d'ADN chez le *D. cayenensis-rotundata* (cultivé), quatre espèces sauvages et des hybrides cultivé × sauvage

Espèce	Cultivar	Index d'ADN par noyau (ua)			
		210 ± 10	280 ± 20	400 ± 40	585 ± 4
<i>D. cayenensis-rotundata</i> Côte-d'Ivoire	Kangba		1	5	
	Kponan		1	1	
	Baniakpa			1	
	Cocoassié			1	
	Krenglé		3		
	Kroukroupa		1		
	Kpokpokpokpo			1	
	Sopéré		1		
	Yaobadou				2
	Indéterminé		4	3	
Cameroun		5	4		
Autres origines géographiques			12		
<i>D. abyssinica</i>			3		
<i>D. mangelotiana</i>			11		
<i>D. praehensilis</i>			2		
<i>D. togoensis</i>		5			
Hybrides			9		

NOTA : Les cultivars du *D. cayenensis-rotundata* de Côte-d'Ivoire correspondent à ceux décrits par Hamon *et al.* (1986). Les échantillons dont l'identification n'a pu être complétée avant la mise en culture *in vitro* constituent la classe indéterminée.

TABLEAU 3. Index d'ADN et taille du génome des espèces étudiées

Espèce	Forme	Index d'ADN		Taille du génome IC	
		ua	pg	pg	pb × 10 ⁹
<i>Oryza sativa</i> type japonica	C	200	0,885	0,44	0,42
<i>D. alata</i>	C	200	0,885		
		250	1,11		
		305	1,34		
		410	1,81		
		485	2,15		
		580	2,56		
<i>D. abyssinica</i>	S	280	1,24	0,31	0,30
<i>D. bulbifera</i>	S et C	285	1,26		
		C	415	1,84	
	S et C	470	2,08		
		C	650	2,88	
<i>D. cayenensis-rotundata</i>	C	280	1,24	0,31	0,30
		400	1,77		
		480	2,59		
<i>D. esculenta</i>	C	380	1,68		
<i>D. mangelotiana</i>	S	280	1,24	0,31	0,30
<i>D. praehensilis</i>	S	280	1,24	0,31	0,30
<i>D. togoensis</i>	S	210	0,93	0,23	0,22
Hybrides		280	1,24	0,31	0,30

NOTA : C, cultivé; S, sauvage. La taille du génome IC a été calculée à partir des données suivantes : *D. praehensilis* et *D. abyssinica* : $2n = 4x$ (Miège 1952; Martin et Ortiz 1963); *D. cayenensis-rotundata* : $2n = 4x, 6x$ et $8x$ (Baquar 1980; Zoundjibékpon *et al.* 1990); *D. togoensis* : $2n = 4x$ (Miège 1952); *D. mangelotiana* : $2n = 4x$ (A. Hladik, communication personnelle).

l'ouest. Cependant, une majorité d'échantillons (28 sur 48) possède une teneur en ADN de 280 ua. Dans ce cas, l'utilisation d'échantillons témoins à nombre de chromosomes connus nous permet de faire correspondre les index d'ADN à des niveaux de ploïdie : 280, 400 et 585 ua équivalent respectivement à $2n = 4x, 6x$ et $8x$.

Les quatre autres espèces étudiées (sauvages) ainsi que les hybrides *D. cayenensis-rotundata* cv. Krenglé × *D. praehen-*

silis sont homogènes quant à leur index d'ADN. Le *D. praehensilis*, le *D. mangelotiana*, le *D. abyssinica* et les hybrides ont des teneurs équivalentes entre elles et à celle majoritairement représentée chez le *D. cayenensis-rotundata* (tableau 2).

Évaluation de la taille du génome de quelques espèces

Le riz sert ici de témoin pour le calcul de la taille du génome. Chez l'igname, les teneurs en ADN en picogrammes

par noyau varient de 0,885 chez le *D. alata* à 2,88 chez le *D. bulbifera* (tableau 3).

Deux génomes de petite taille, inférieurs à celui du riz, sont mis en évidence. Ils représentent 71 et 52,4% du génome 1C en paires de bases du riz (tableau 3). Le génome présent chez le *D. togoensis* est inférieur de 26% à celui de trois autres espèces sauvages (*D. praehensilis*, *D. abyssinica*, *D. mangelotiana*) et des formes tétraploïdes du *D. cayenensis-rotundata*.

Discussion

L'analyse en cytométrie en flux de huit espèces d'ignames sauvages et cultivées montre qu'il existe des teneurs en ADN très variables au niveau intra- et inter-spécifique, allant de 0,885 à 2,88 pg par noyau.

Si on assimile index d'ADN à degré de ploïdie, la poly-ploïdie au niveau intraspécifique est de règle chez les espèces cultivées à une exception près. En effet, dans cette étude, le *D. esculenta* est la seule espèce cultivée invariable quant à la teneur en ADN (1,68 pg/noyau). Ce résultat est en accord avec celui de Miège (1954) qui indique 40 chromosomes. Il apparaît contradictoire avec ceux rapportés par Essad (1984) faisant état de 40, 60, 90 et 100 chromosomes.

En fait, cette espèce serait originaire d'Asie du sud-est, de Nouvelle-Guinée et des Philippines selon Burkill (1960). Sa migration à partir de son centre d'origine ne daterait que du siècle dernier (Coursey 1976). On peut donc se demander quelle part de la variabilité totale de l'espèce figure en collection et a été analysée? Une situation comparable a été observée chez le gombo cultivé (*Abelmoschus esculentus*). Martin (1982), et S. Hamon (1988) montrent que la variabilité de la collection du United States Department of Agriculture est faible par rapport à celle rencontrée uniquement en Afrique de l'ouest.

Chez le *D. alata*, les dénombrements de Miège (1952), Martin et Ortiz (1963) et Ramachandran (1968) font état de 30, 40, 50, 60, 70 et 80 chromosomes. Avec un nombre de base $x = 10$, ceci signifie qu'il existe une série polyploïde allant du triploïde à l'octoploïde. D'autre part, aucune forme aneuploïde n'a été mise en évidence. Nos résultats confirment l'existence d'une série polyploïde. Cependant, ne disposant pas d'un témoin *D. alata* à nombre de chromosomes connu, si on fixe arbitrairement la teneur observée la plus basse équivalente à 30 chromosomes soit à $2n = 3x$, on obtient approximativement la série polyploïde suivante : $3x$, $3,5x$, $4,5x$, $6x$, $7x$, $8,5x$. Dans ces conditions, les valeurs $6x$ et $7x$ pourraient correspondre à 60 et 70 chromosomes. En ce qui concerne les autres résultats, le parallèle n'est pas aisé à établir. Les index de ploïdie observés ne permettent pas de différencier le groupe des Nza des Bètè-Bètè. L'échantillonnage n'est pas suffisant pour conclure que les forts index d'ADN ne se rencontrent que chez les Nza.

Rapportés en picogrammes, les index d'ADN par noyau sont de 0,885, 1,11, 1,34, 1,81, 2,15 et 2,56. Si on se réfère à la valeur donnée par Arumuganathan et Earle (1991), on constate que celle-ci est très proche d'une de nos valeurs : 1,15 contre 1,11 pg. Ceci montre que cette méthode d'analyse est très fiable. L'échantillon que ces auteurs ont analysé appartient certainement à la classe d'index de ploïdie la plus représentée chez le *D. alata*. Contrairement à ces auteurs, il ne nous paraît pas justifié de considérer le *D. alata* comme une espèce diploïde. La taille du génome calculée par Arumuganathan et Earle (1991) n'a donc pas de sens; elle est supérieure

à la taille réelle du génome du *D. alata*.

Les valeurs indiquées chez le *D. bulbifera* par Essad (1984) ne sont pas fonction de la forme (cultivée ou sauvage) de l'espèce, mais de son origine géographique : 40, 60, 70, 80 et 100 chromosomes en Asie et 36, 40, 54 et 60 chromosomes en Afrique. Étant donné les valeurs $x = 10$ et 9 en Afrique, les échantillons à 40 et 36 chromosomes sont à $2n = 4x$. Dans notre étude, les quatre échantillons analysés présentent des teneurs différentes en ADN pouvant se rapporter à $4x$, $6x$, $6,6x$, et $9x$ si l'on fait correspondre le niveau $4x$ à la teneur en ADN observée la plus faible. Pour les six échantillons africains, les relations entre les niveaux $4x$, $6x$, $6,6x$ et les nombres de chromosomes reportés dans la littérature peuvent être établies en considérant le nombre de base $x = 9$. Dans ces conditions, $4x$, $6x$ et $6,6x$ correspondent respectivement à 36, 54 et 60 chromosomes. Pour chacune de ces trois espèces, *D. esculenta*, *D. alata* et *D. bulbifera*, il apparaît nécessaire de disposer d'un échantillon témoin à nombre connu de chromosomes, pouvant être diffusé afin de permettre la comparaison d'études menées en des lieux différents.

La situation est toute différente pour le *D. cayenensis-rotundata*. Chez ce dernier, nous avons établi par l'étude des mêmes échantillons, la correspondance entre le nombre de chromosomes (40, 60, et 80, selon Zoundjihékon *et al.* 1990) et les teneurs en ADN. Les niveaux $4x$, $6x$ et $8x$ équivalent respectivement à 1,24, 1,77 et 2,59 pg d'ADN par noyau. Dès lors, on constate que le passage de 40 à 80 chromosomes s'accompagne d'un doublement de la teneur en ADN.

Une origine allopolyploïde pour les échantillons octoploïdes a été pressentie par P. Hamon (1988). Cet auteur a conclu, à partir de données électrophorétiques d'isozymes et morphologiques, à une origine hybride interspécifique *D. praehensilis* × *D. burkilliana* pour le cultivar Yaobadou. Récemment, à partir de l'étude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction de l'ADN chloroplastique et de l'ADN ribosomal, Terauchi *et al.* (1992) aboutissent également à une origine hybride interspécifique pour une partie des échantillons du *D. cayenensis-rotundata*. Ces auteurs mentionnent comme parents putatifs, dans la formation de ces hybrides interspécifiques, le *D. togoensis* et le *D. minutiflora*, au même titre que le *D. burkilliana*.

Si l'on considère les espèces sauvages tétraploïdes, nos résultats indiquent la présence de deux génomes différant par leur taille (voir tableau 3). Le génome du *D. togoensis* représente 74% de celui du *D. abyssinica*, du *D. praehensilis* ou du *D. mangelotiana* (0,23 pg contre 0,31). Compte tenu de la teneur en ADN en picogrammes des octoploïdes (2,59) et celle du *D. praehensilis* (1,24), la contribution théorique du *D. togoensis* à la formation de ces octoploïdes devrait être de $2,59 - 1,24 = 1,35$ pg. Cette valeur est très éloignée de celle que nous avons obtenue dans cette étude (0,93 pg). La contribution du *D. togoensis* à l'évolution du *D. cayenensis-rotundata* nous paraît donc très hypothétique et reste à démontrer.

Deux génomes sont donc caractérisés, l'un (génome A) est présent chez le *D. cayenensis-rotundata*, le *D. praehensilis*, le *D. abyssinica* et le *D. mangelotiana*, l'autre (génome B), chez le *D. togoensis*. Ces deux génomes sont de petite taille, seulement 1,5 à 2,1 fois plus grands que celui du *Arabidopsis* (Arumuganathan et Earle 1991).

Enfin, toutes les espèces sauvages analysées, hormis le *D. bulbifera*, se sont révélées homogènes avec un seul niveau de ploïdie. Pour les espèces se reproduisant uniquement par voie sexuée, ce résultat est logique. La formation de poly-

ploïdes, quelle que soit leur origine, conduirait soit à un phénomène de spéciation, soit ne serait qu'une « anomalie » maintenue par la production d'un tubercule, lui assurant au niveau individuel la pérennité, mais sans effet sur les générations ultérieures.

Par contre, chez les espèces disposant des reproductions sexuée et végétative autre que par formation d'un tubercule, les polyploïdes peuvent provenir de mutations somatiques survenant dans des organes tels que les bulbilles. Celles-ci vont assurer la multiplication et la propagation des clones polyploïdes palliant ainsi une sexualité défaillante ou inopérante.

On peut alors avoir deux situations : (i) Les formes polyploïdes sont suffisamment différentes morphologiquement de l'espèce de départ et sont considérées, à un moment donné, comme des espèces à part entière. Dans ce cas, l'espèce de départ reste homogène avec un seul niveau de ploïdie.

(ii) Chez l'espèce de départ, formes polyploïdes et formes originelles sont apparemment indistinguables morphologiquement. L'espèce prise dans son sens linéen (ensemble d'individu se ressemblant) et non plus biologique (ensemble des individus interféconds) apparaîtra alors polymorphe pour la teneur en ADN.

Ce dernier cas explique les observations chez le *D. bulbifera* sauvage et traduit la difficulté à étudier un genre dans lequel la reproduction végétative contribue certainement à sa complexité.

Remerciements

Nous tenons à remercier Madame Nicole Michaux-Ferrière (Centre de coopération internationale en recherche agronomique, Montpellier) pour la lecture critique du manuscrit.

- Araki, H., Harada, T., et Yakwa, T. 1983. Some characteristics of interspecific hybrids between *Dioscorea japonica* and *Dioscorea opposita*. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* **52** : 153–158.
- Arumuganathan, K., et Earle, E. D. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* **9**(3) : 208–218.
- Baquer, S. R. 1980. Chromosome behaviour in Nigerian yams (*Dioscorea*). *Genetica (The Hague)*, **54** : 1–9.
- Bennett, M. D., et Smith, J. B. 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Philos. Trans. R. Soc. London, B*, **274** : 227–273.
- Bino, R. J., van Tuyl, J. M., et de Vries, J. N. 1990. Flow cytometric determination of relative nuclear DNA contents in bicellulate and tricellulate pollen. *Ann. Bot. (London)*, **65** : 3–8.
- Brown, S. P., Devaud, P., Marie, D., et al. 1991. Analyse de la ploïdie par cytométrie en flux. *Biofutur*, **105**(47).
- Burkill, I. H. 1960. The organography and the evolution of *Dioscorea*, the family of yams. *J. Linn. Soc. London Bot.* **56** : 319–412.
- Coursey, D. G. 1976. Evolution of crop plants. Longmans, London. pp. 70–74.
- Essad, S. 1984. Variatin géographique des nombres chromosomiques de base et polyploïdie dans le genre *Dioscorea*, à propos du dénombrement des espèces *transversa* Brown, *pilosiuscula* Bert. et *trifida* L. *Agronomie (Paris)*, **4** : 611–617.
- Galbraith, D. W., Harkins, K. R., Maddox, J. M., et al. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle of intact plant tissues. *Science (Washington, D.C.)* **220** : 1049–1051.
- Hamon, P. 1988. Structure, origine génétique des ignames cultivées du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata* et domestication des ignames en Afrique de l'Ouest. ORSTOM T.D.M. n° 47.
- Hamon, P., Hamon, S., et Touré, B. 1986. Les ignames du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata* de Côte-d'Ivoire. Inventaire et description des « cultivars » traditionnels. International Board for Plant Genetic Resources – Food and Agriculture Organization, Rome.
- Hamon, S. 1988. Organisation évolutive du genre *Abelmoschus* (gombo) : co-adaptation et évolution de deux espèces de gombo cultivées en Afrique de l'Ouest (*A. esculentus* et *A. caillei*). ORSTOM, travaux, documents et mémoires n° 46.
- Henry, V. C. R. 1967. Studies on botanical and agronomic characteristics in cush-cush (*Dioscorea trifida* L.). Thèse de doctorat, Université McGill, Montréal.
- Knuth, R. 1924. *Dioscoreaceae*. Dans *Das Pflanzenreich*. Volume 87, partie 4. Éditeur : Engler.
- Martin, F. W. 1982. A second edible okra species, and its hybrids with common okra. *Ann. Bot. (London)*, **50** : 277–283.
- Martin, F. W., et Degras, L. 1978. Tropical yams and their potential. Part 6. Minor cultivated *Dioscorea* species. U. S. Dep. Agric. Agric. Handb. n° 538.
- Martin, F. W., et Ortiz, S. 1963. Chromosome number behaviour in some species of *Dioscorea*. *Cytologia (Tokyo)*, **28** : 96–101.
- Miège, J. 1952. Contribution à l'étude systématique des *Dioscorea* d'Afrique Occidentale. Thèse de doctorat d'État, Université de Paris, Paris.
- Miège, J. 1954. Nombre chromosomique et répartition géographique de quelques plantes tropicales et équatoriales. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* **15** : 312–348.
- Muvilhead, K., Horan, P. K., et Poste, G. 1985. Flow cytometry : present and future. *Bio/Technology*, **3** : 337–356.
- Petit, P., Conia, J., Brown, S., et Bergounioux, C. 1986. Cytométrie en flux et biotechnologies végétales. *Biofutur*, **51** : 128–139.
- Ramachandran, K. 1968. Cytological studies in *Dioscoreaceae*. *Cytologia*, **33** : 27–33.
- Strauss, N. A. 1971. Comparative DNA renaturation kinetics in Amphibians. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **68** : 799–802.
- Terauchi, R., Chikaleke, V. A., Thottapilly, G., et al. 1992. Origin and phylogeny of Guinea yams as revealed by RFLP analysis of chloroplast DNA and nuclear ribosomal DNA. *Theor. Appl. Genet.* **83** : 743–751.
- Terauchi, R., Terachi, T., et Tsunewaki, T. 1989. Physical map of chloroplast DNA of aerial yam, *Dioscorea bulbifera*. L. *Theor. Appl. Genet.* **78** : 1–10.
- Zoundjihékpon, J., Essad, S., et Touré, B. 1990. Dénombrement chromosomique dans dix groupes variétaux du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata*. *Cytologia*, **55** : 115–120.