

**Dossier de candidature à l'inscription sur la Liste d'Aptitude aux
Fonctions de Maître Assistant (LAFMA) du Conseil Africain et
Malgache pour l'Enseignement Supérieur (C.A.M.E.S.)**

01 BP 134 Ouagadougou 01, Burkina Faso – Tél. : (+226) 50 36 81 46 – Fax : (226) 50 36 85 73

E-mail : comes@bf.refer.org Site web : www.lecomes.org

CTS SCIENCES NATURELLES-AGRONOMIE

Publication N° 4

Titre : Effets de l'acclimatation sur le comportement en milieu réel de quelques variétés améliorées de manioc (*Manihot esculenta*, Crantz) cultivées.

Année de publication : 2013

Auteurs : Cacaï Gilles Habib Todjro, Noël Marie Louise, Nguema Ndoutoumou Pamphile, Ondo Ovono Paul, Agbangla Clément, AHANHANZO Corneille.

Nom de la revue scientifique : Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé (Togo)

Série A, Volume : 15, Numéro : 3, Pages 45-52

ISSN (print): 1727-8651, ISSN 2413-354X (online)



Lien: <http://www.ajol.info/index.php/jrsul/issue/archive>

INDEXATION: AJOL, Google scholar, ResearchBib

EFFETS DE L'ACCLIMATATION SUR LE COMPORTEMENT EN MILIEU REEL DE QUELQUES VARIETES AMELIOREES DE MANIOC (*MANIHOT ESCULENTA*, CRANTZ) CULTIVEES AU BENIN.

CACAI G.H.T.^{1*}, NOEL M. L.², NGUEMA NDOUTOUMOU P.²,
ONDO OVONO P.², AGBANGLA C.¹, AHANHANZO C.¹

1- Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01BP 526 Cotonou, Bénin.

2- Institut National Supérieur d'Agronomie et de Biotechnologies (INSAB), Université des Sciences et Techniques Masuku (USTM, Franceville, Gabon).

* Auteur correspondant, E-mail : caghat@yahoo.fr ; Tel : 00229 95-79-13-83

(Reçu le 22 Mars 2013 ; Révisé le 12 Octobre 2013 ; Accepté le 25 Octobre 2013)

RESUME

L'objectif de ce travail est de rendre disponibles par l'acclimatation de nouveaux matériels de plantations de manioc obtenues grâce aux techniques de culture *in vitro*. Les vitroplants de huit variétés de huit mois produits au Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies de l'Université d'Abomey-Calavi (LGB/UAC) sont soumis à un processus d'acclimatation graduelle en serre puis en milieu réel. Le taux de survie des vitroplants est enregistré après quatre semaines de culture sous serre puis les effets de l'acclimatation en milieu réel sont analysés sur les variétés BEN 86052, RB 89509, TMS 30572, 91/02319, 91/02327, 92B/0068, à travers les paramètres tels que la hauteur et le diamètre des plants sevrés. Les variétés 91/02327 et BEN 86052 ont enregistré 100% de survie contre un faible taux (4,39%) enregistré par la variété 92B/0057. Cependant, on note une croissance en hauteur et en diamètre des plantes de toutes les variétés durant les 50 jours d'expérimentation avec une meilleure croissance présentée par la BEN 86052. La variété 91/02319 présente la plus faible performance. Cette étude est donc capitale pour la fourniture directe des semences saines de manioc aux producteurs.

Mots clés : *Manihot esculenta* ; vitroplant ; milieu réel ; Acclimatation.

ABSTRACT

Effects of the acclimatization on the behavior in real environment of some improved varieties of cassava (Manihot esculenta, Crantz) from Benin.

This study purpose to make available by the acclimatization new materials of cassava obtained to *in vitro* culture techniques. Thus, the vitroplants of eight varieties, and aged of eight months are subjected to a gradual process of acclimatization in mini greenhouse then in real environment. The rate of survival of the plantlets is recorded after four weeks in greenhouse then the effects of the acclimatization in real environment are analyzed on the varieties BEN 86052, RB 89509, TMS 30572, 91/02319, 91/02327, 92B/0068 through the parameters such as the height and the diameter of the acclimatized seedlings. Varieties 91/02327 and the BEN 86052 recorded 100% of survival against a weak rate (4.39%) recorded by the variety 92B/0057. Meanwhile, it is remarked that a growth in height and diameter of the plants of all the varieties during the 50 days of experimentation with a better growth presented by the BEN 86052. The 91/02319 presents the weakest performance. This study is crucial for the direct provision of healthy cassava seed to producers.

Key words: *Manihot esculenta*; plantlet; real environment; acclimatization.

INTRODUCTION

Le manioc (*Manihot esculenta*. Crantz) est une culture pérenne, une plante herbacée à racines tubéreuses, amylacées et à tige noueuse. Il jouit d'une grande plasticité agro-écologique et présente une bonne résistance à la sécheresse et à l'acidité des sols. Il est classé au cinquième rang mondial des productions végétales alimentaires après le maïs, le riz, le blé et la pomme de terre (FAO, 2007). Le manioc, culture de subsistance à l'origine, tend à devenir une culture commerciale comme le coton, le café et le palmier à huile. Il procure des revenus substantiels aux producteurs. Plus de 72% de la production des ménages est vendue contre 67% pour le maïs (NWEKE, 1996). Dans l'agriculture béninoise et gabonaise, le manioc occupe une place de choix de par ses utilisations diverses dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et textiles. En effet, Il est consommé sous plusieurs formes : gari, tapioca, frais, bâton de manioc et bien d'autres pâtes, tandis que les feuilles sont consommées comme légume (kpyiba dans le plateau d'Abomey et saka saka au Gabon), ou servent parfois d'emballage dans certains pays. Le manioc est aussi utilisé comme aliment pour le bétail.

Malgré cette importance, le manioc reste l'une des rares cultures dont les techniques culturales ont connu très peu d'amélioration. En effet, La multiplication végétative du manioc constitue la cause des limitations principales à l'amélioration de sa culture (HENRY et IGLESIAS, 1993). On note des infections systémiques, particulièrement des virus et de la rouille bactérienne commune, dans la matière végétale, qui peuvent causer des pertes de production d'environ 60% (THRO et al., 1997) et des pertes de diversité dans les collections cultivées aux champs (IPGRI/CIAT, 1994). Aussi, la culture du manioc se trouve-t-elle confrontée à d'autres séries de contraintes abiotiques (facteurs agronomiques, édaphiques et socio-économiques) qui, associées à celles biotiques (maladies virales et bactériennes, attaques par les ravageurs, etc.) conduisent à une

insuffisance de matériel de propagation.

Sur financement de quelques institutions telles que l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB), le Centre Béninois de Recherche Scientifique et Technique (CBRST), le Projet de Développement des Plantes à Racines et Tubercules (PDRT) et le Programme d'Appui au Développement Rural (PADER); le Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies de l'Université d'Abomey-Calavi (LGB/UAC), s'investit depuis les années 2000 dans la production de vitroplants de certaines espèces végétales dont surtout le manioc. Le succès final de la culture de pousses obtenues par culture *in vitro* dépend de la capacité de transférer et de rétablir vigoureusement la croissance des plantes dans les conditions hors du laboratoire. Si les techniques de la culture *in vitro* nécessitent une précision et des soins tous particuliers au laboratoire, le sevrage de ces plants et leur adaptation au champ doivent aussi être suivis de près. Le sevrage consiste à acclimater les vitroplants aux conditions de plein champ, beaucoup plus variables et aléatoires. Les facteurs susceptibles d'influencer fortement le développement des vitroplants sont: le climat (humidité, température, ensoleillement); le sol (composition chimique, présence d'éléments toxiques, carences); les prédateurs (insectes aériens ou souterrains, acariens). Au cours du processus d'acclimatation des vitroplants cultivés, les tissus subissent des changements anatomiques (CAPELLADES et al., 1990) et physiologiques (GROUT et MILLAN, 1985) au niveau des feuilles, ce qui confère aux plantes une plus grande potentialité pour la survie. A l'issue de ces procédures d'acclimatation, on note généralement une réduction du taux de survie (NG et al., 2010) du fait de la difficulté à réaliser une transition du mode de nutrition hétérotrophe au mode de nutrition phototrophe (GROUT et ASTON, 1978; WARDLE et al., 1983). Les mécanismes physiologiques réglant l'acclimatation restent obscurs, on note une induction des changements des modèles développementaux des feuilles après traitement à l'acide abscissique *in vivo*

Effets de l'acclimatation sur le comportement en milieu réel de quelques variétés améliorées de manioc (*manihot esculenta*, crantz) cultivées au Bénin.

(ZEEVAART et CREELMAN, 1988) et *in vitro* (JARRET et GAWEL, 1991 ; KANE et ALBERT, 1989). Bien que les recherches sur la culture *in vitro* du manioc aient été objet de plusieurs publications principalement les effets des régulateurs de croissance sur le débourrement (CACAI et al., 2013) et l'organogénèse (AHANHANZO et al., 2008 ; CACAI et al., 2012 ; MAPAYI et al., 2013) sur les techniques de production de matériels sains de plantation (NG, 1990 ; WASSWA et al., 2010), peu de travaux sont réalisés sur le transfert des vitroplants obtenus en milieu réel (BOHER et JENNY, 1998 ; IITA, 1990).

Dans la présente étude, nous avons analysé le comportement en milieu réel des vitroplants de quelques variétés de manioc (*Manihot esculenta*, Crantz) cultivés au Bénin lors de l'acclimatation. De façon plus spécifique, nous avons évalué d'une part, le taux de survie des vitroplants sous serre et mesuré d'autre part, quelques paramètres de croissance de ces vitroplants en milieu réel.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Le matériel utilisé est constitué de huit (8) variétés de manioc que sont BEN 86052, RB 89059, TMS 30572, 91/02319, 91/02327, 00/0068, 92B/0068, 92B/0057 (Tableau I) collectées au Centre de Recherche Agricole Sud du Bénin, dont l'établissement de la culture *in vitro* et l'organogénèse sont réalisés au Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies de l'Université d'Abomey-Calavi.

Méthodes

Les explants des huit variétés sont initiés en culture *in vitro* selon la méthode décrite par NG (1990). Les vitroplants ayant un bon développement végétatif (enracinés et comportant 3 à 4 feuilles) âgés de huit mois, produits dans le Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies de l'Université d'Abomey Calavi, issus des huit variétés améliorées sont acheminés vers le Centre de Recherches Agricoles de Niaouli. Lors du

transfert, les vitroplants passent par des conditions aseptiques optimales, empêchant toute contamination. Ainsi, ils sont isolés des tubes avec une longue pince stérilisée. Les racines sont lavées avec délicatesse dans de l'eau distillée stérilisée en prenant soin de ne pas casser les racines existantes très fragiles et les feuilles les plus âgées sont élaguées. Le substrat sol reconstitué est stérilisé dans une étuve portée à 200°C pendant 30 minutes. Les pots préalablement numérotés et tuteurés sont disposés en lignes. Un arrosage journalier est pratiqué à l'aide d'une seringue. Ils sont ensuite incubés pendant un mois dans une enceinte présentant des caractéristiques suivantes : une température de 28°C, une photopériode de 12 heures par jour, une humidité relative variant entre 70 et 80%.

Tableau I: Différentes variétés des vitroplants de manioc acclimatées à Niaouli

| Variétés | Nombre des vitroplants acclimatés |
|--------------|-----------------------------------|
| 91/02319 | 160 |
| 91/02327 | 5 |
| 92B/0068 | 7 |
| 92B/0057 | 91 |
| 00/0068 | 36 |
| RB 89509 | 26 |
| BEN 86052 | 10 |
| TMS 30572 | 21 |
| TOTAL | 502 |

Après un mois de sevrage, les vitroplants ayant survécu sont transférés en milieu réel sur un sol ferrallitique sans apport de fumure organique ni minérale. Ces vitroplants sont disposés en lignes. Sur chaque ligne est plantée une variété, avec un écartement d'un mètre. Les plants ainsi transférés au champ sont suivis pendant cinquante jours. Les paramètres tels que la hauteur des pousses, le diamètre de la tige ont été mesurés à intervalle de dix jours à partir du jour de la mise en terre.

Un dispositif complètement aléatoire a été adopté. Pour toutes les expériences réalisées, le logiciel STATISTICA 6.0 a été utilisé pour les analyses statistiques. Les tests d'homogénéités de variance à deux ou trois facteurs de classification ont été réalisés afin de savoir s'il y a une différence entre les facteurs étudiés.

RESULTATS

Survie des vitroplants

Les résultats relatifs à la survie des vitroplants en milieu réel sont consignés dans le tableau II. La technique d'acclimatation des

vitroplants a permis de régénérer des vitroplants dont le taux varie d'une variété à une autre. En effet, la meilleure survie est notée chez les variétés 91/02327 et BEN 86052 avec un taux de 100% contre un taux de survie de 4,39% enregistrés chez la variété 92B/0057. Les variétés TMS 30572 et la RB 89509 ont donné des taux de survie respectifs 42,86% et 34,61% non négligeables par rapport aux variétés 91/02319, 92B/0057 et 00/0068 chez qui la perte des vitroplants acclimatés est énorme. Ces vitroplants acclimatés après quatre semaines sont prêts à être transférés au champ car les plantules présentent des feuilles verdâtres et assez développées.

Tableau II. Comportement des vitroplants acclimatés en milieu réel

| Variétés | Nombre de vitroplants acclimatés | Nombre de survie | Taux de survie |
|-----------|----------------------------------|------------------|----------------|
| 91/02319 | 160 | 18 | 11,25 % |
| 91/02327 | 5 | 5 | 100% |
| 92B/0068 | 7 | 2 | 28,57% |
| 92B/0057 | 91 | 4 | 4,39% |
| 00/0068 | 36 | 6 | 16,66% |
| RB 89509 | 26 | 9 | 34,61% |
| BEN 86052 | 10 | 10 | 100% |
| TMS 30572 | 21 | 9 | 42,86% |

Croissance en hauteur des vitroplants

La figure 1 présente la croissance en hauteur des vitroplants. Les résultats obtenus ont montré une évolution croissante dans le temps de toutes les variétés étudiées. Cependant, les différences de croissance s'observent d'une variété à une autre. Les variétés BEN 86052 et 92B/0068 présentent les meilleures croissances au regard de leurs courbes respectives qui restent au-dessus des courbes des autres variétés durant toute la période d'observation (10, 20, 30, 40 et 50 jours) et de leurs moyennes respectives nettement supérieures à celles des autres variétés. Quant aux variétés 92B/0068 et la TMS 30572 elles

présentent une supériorité relative de leur croissance en hauteur selon les périodes. En effet, en dehors de la période se situant entre le vingt cinquième et le trente-cinquième jour la variété 92B/0068 présente une vitesse de croissance en hauteur nettement supérieure à celle de la variété TMS 30572. La variété 91/02319 présente les plus faibles hauteurs des tiges malgré que sa hauteur initiale soit supérieure à celle des variétés 91/02327 et RB 89509. Cependant, elle a connu un développement attestant la réussite de l'acclimatation (Figure 3). Le temps a significativement affecté la croissance des vitroplants. L'analyse statistique a révélé une

Effets de l'acclimatation sur le comportement en milieu réel de quelques variétés améliorées de manioc (*manihot esculenta*, crantz) cultivées au Bénin.

différence significative ($p=0,04$) de la hauteur de la tige entre les variétés étudiées.

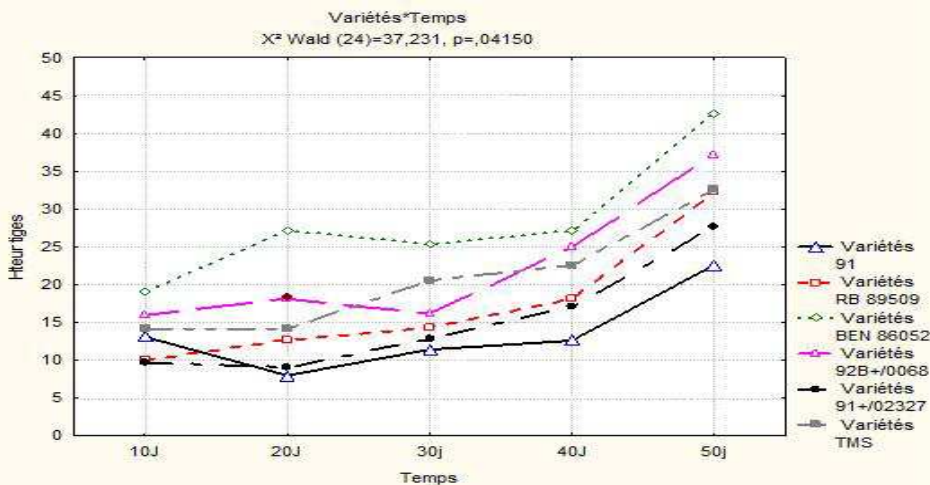


Figure 1 : Evolution de la croissance en hauteur des vitroplants acclimatés des variétés de manioc après deux repiquages en culture *in vitro* sur milieu MS additionné de $0,01\text{mg l}^{-1}$ (ANA)+ $0,05\text{mg l}^{-1}$ (BAP) suivi d'un sevrage en serre

Croissance en diamètre des vitroplants

La figure 2 montre qu'il y a une évolution croissante du diamètre de toutes les variétés dès le dixième jour après la mise en culture en

plein champ excepté la variété 91/02327 dont la croissance du diamètre débute à partir du vingtième jour.

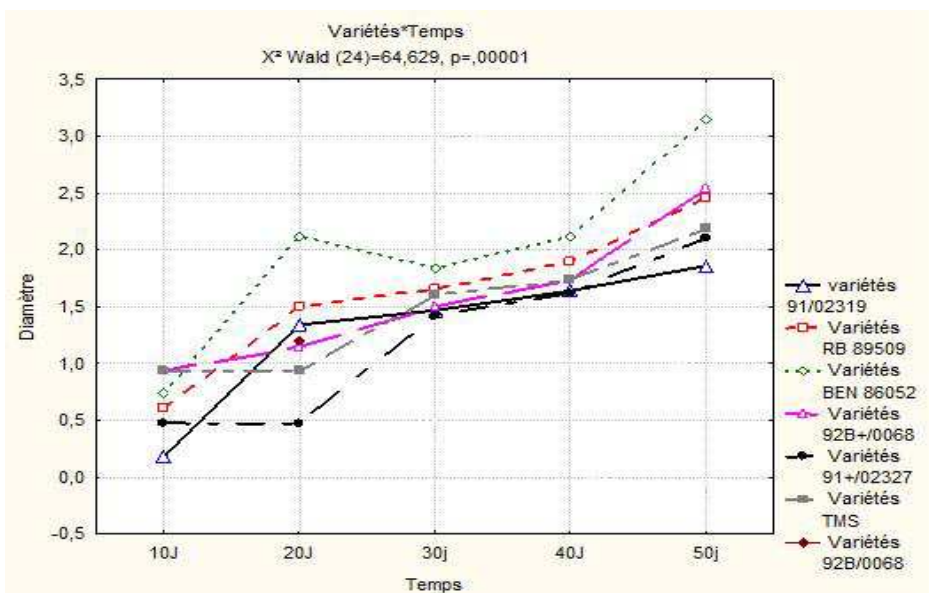


Figure 2 : Evolution de la croissance des diamètres des vitroplants acclimatés des variétés de manioc après deux repiquages en culture *in vitro* sur milieu MS additionné de $0,01\text{mg l}^{-1}$ (ANA)+ $0,05\text{mg l}^{-1}$ (BAP) suivi d'un sevrage en serre.

D'une façon générale, la variété BEN 86509 présente une meilleure croissance en diamètre pendant toute la durée des observations alors

que la variété 91/02327 affiche les plus faibles performances comparativement aux autres.

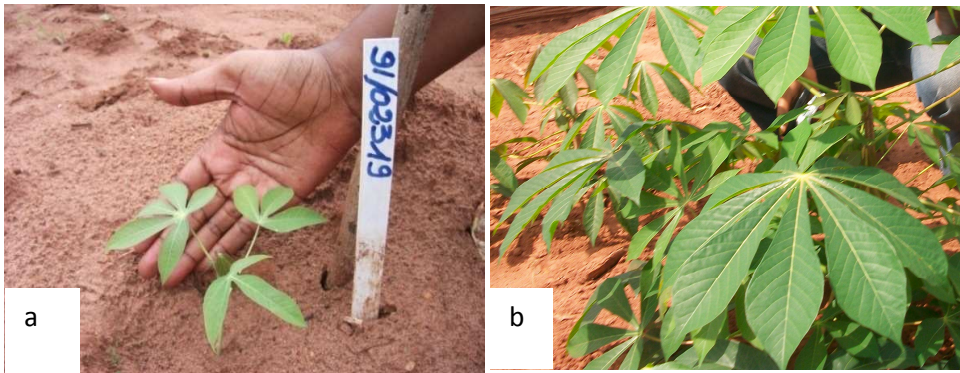


Figure 3. Evolution des vitroplants de la variété 91/02319 de *M. esculenta* en milieu réel (a) une semaine après transfert ; (b) 50 jours après transfert.

Les variétés BEN 86052 et RB 89509 ont présenté des diamètres de tige supérieurs à ceux des autres variétés avec une nette supériorité de la BEN 86052. Les diamètres des tiges mesurés chez les variétés BEN 86052, RB 89509 et 91/02319 ont connu une forte évolution entre le dixième et le vingtième jour. L'évolution de la croissance des diamètres chez les variétés TMS 30572 ; 91/02327 et 92B/0068 est très faible au cours de cette même période.

Cependant, une forte évolution de la croissance chez ces trois variétés à été observée à partir du trentième jour. Inversement, les variétés BEN 86052, RB 89509 et 91/02319 ont connu des diamètres relativement stables entre le trentième et le quarantième jour de culture. Au-delà du quarantième jour, toutes les variétés présentent une croissance normale de leur diamètre. Une différence hautement significative ($p=0,0001$) est notée entre les diamètres des variétés étudiées.

DISCUSSION

Nos résultats ont montré que les vitroplants

des différentes variétés de manioc ont des comportements différents en milieu réel. En effet, les variétés 91/02327 ; BEN 86052 ont été acclimatées avec succès. Le sevrage des vitroplants n'a pas connu un succès pour les variétés 91/02319 ; 92B/0068 ; 92B/0057 ; 00/0068. Par contre le taux de survie de la variété TMS 30572 qui est de 42,86% se rapproche de la moyenne (50%). Les comportements variables observés chez les différentes variétés concluent à une relation entre la réussite de l'acclimatation et la variété. Le faible taux de réussite observé chez bon nombre de variétés pourrait avoir plusieurs causes. En effet, la réussite de l'acclimatation dépend de certains facteurs dont l'âge, la variété, la nature du substrat, les conditions trophiques et les facteurs climatiques. Les vitroplants qui ont été acclimatés dans le cadre de nos travaux étant du même âge (huit mois), ce facteur ne détermine donc pas les faibles taux de survie au sein des variétés 91/02319 ; 92B/0068 ; 92B/0057 ; 00/0068. Cependant, l'apparition précoce des signes de sénescence (chlorose) chez ces variétés pourrait réduire leur aptitude à lutter contre les formes de stress (thermique, hydrique, éolien, etc.). Ces résultats

confirment alors ceux de NDOUMOU et *al.*, (2004) qui ont enregistré des faibles taux de survie à cause de l'âge avancé des vitroplants chez des espèces fruitières comme *Irvingia gabonensis* et *Rinodendron heudoletti* alors que AIDAM (2005) travaillant dans les mêmes conditions a observé un fort taux de réussite chez l'espèce *Ocimum gratissimum*. L'état du vitroplant détermine la réussite de l'acclimatation. Chez les variétés 91/02327 et BEN 86052, l'acclimatation est presque sans échec. Ce résultat serait dû au système racinaire et au feuillage bien développé qu'elles présentent. La nature du substrat est aussi un facteur non négligeable. AIDAM (2005) a obtenu un taux de réussite de 100% en utilisant de la vermiculite et le composte comme substrats. Ces substrats offrent une meilleure aération permettant aux racines des vitroplants encore fragiles de puiser

facilement les substances nutritives pour leur croissance. Le terreau seul utilisé comme substrat dans notre expérimentation ne permettrait donc pas une meilleure absorption des éléments nutritifs par les vitroplants, ce qui justifie le faible taux de survie enregistré pour certaines variétés. Par ailleurs, ces échecs pourraient aussi être justifiés par l'absence d'une mini serre munie de dispositif assurant une acclimatation plus graduelle qu'une serre. Le stress climatique constitue alors une contrainte à la réussite de l'acclimatation des vitroplants. En effet, dans le milieu naturel, l'humidité relative est très faible, la température est variable, la luminosité est très forte et l'atmosphère est contaminée. Ainsi, les paramètres comme la température et l'humidité doivent être rigoureusement contrôlés lors de l'acclimatation.

REFERENCES

1. AHANHANZO C., AGBANGLA C., AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO M., CACAI G., DRAMANE K., 2008. Etude comparative de l'influence des régulateurs de croissance sur la morphogénèse (*in vitro*) de quelques variétés de *Manihot esculenta* Crantz (manioc-euphorbiaceae) du Bénin. *Rev. CAMES - Série A*, 07, 47-52.
2. AIDAM V., 2005. Etablissement de cultures organisées de *Ocimum gratissimum* L. et de *Ocimum basilicum* L en vue de la production de composés d'intérêts thérapeutiques et phytosanitaires. *Thèse de doctorat en Physiologie et Biotechnologies Végétales, Université de Lomé*, 158 p.
3. BENDERRADJI L., BOUZERZOUR H., YKHLEF N., DJEKOUN A., KELLOU K., 2007. Réponse à la culture *in vitro* de trois variétés de l'olivier (*Olea europaea* l.). *Sciences et Technologie, C-N°26*, 27-32.
4. BOHER B., JENNY C., 1988. Production de matériel végétal sain de manioc par la culture *in vitro* ORSTOM, IRAT.
5. CACAI G.H.T., AHANHANZO C., DANGOU J.S., HOUEJISSIN S.S., AGBANGLA C., 2012. Effets de différentes combinaisons hormonales sur l'organogénèse *in vitro* de quelques cultivars locaux et variétés améliorées de *Manihot esculenta* Crantz (manioc-Euphorbiaceae) cultivées au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 6(4), 1593-1607.
6. CACAI G., AHANHANZO C., ADJANOHOUN A., HOUEJISSIN S.S., AZOKPOTA P., AGBANGLA C., 2013. Hormonal influence on the *in vitro* bud burst of some cassava varieties and accessions from Benin. *Afr. J. Biotechnol.*, 12(13), 1475-1481.
7. CAPELLADES M., FONTARNAU R., CARULLA C. and DEBERGH P., 1990. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosa multiflora*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 115, 141-145.
8. FAO, 2007. *Annuaire de production de*

1983 à 2007. Rome. Vol. 45, collection FAO statistiques.

9. GROUT B.W.W. and ASTON M.J., 1978. Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture. II. Carbon dioxide fixation and the development of photosynthetic ability. *Hort. Res.*, 17, 65-71.

10. GROUT B.W.W. and MILLAM S., 1985. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. *Annu. Bot.*, 55, 129-131.

11. HENRY G. and IGLESIAS C., 1993. Problems and opportunity in cassava biotechnology. Pp. 432-461 In Thro A.M and Roca W. (Eds.). *Proceedings of the First International Scientific Meeting, Cassava Biotechnology Network, Cartagena, Colombia, 25-28 August 1992, CIAT Working Doc. No. 123.*

12. IPGRI/CIAT. 1994. Establishment and operation of a pilot *in vitro* active genebank. *Report of a CIAT-IBPGR Collaborative Project using cassava (Manihot esculenta Crantz) as a model. A joint publication of IPBRI, Rome, and CIAT, Cali, Colombia.*

13. JARRET R.L and GAWEL N., 1991. Abscisic acid-induced growth inhibition of sweet potato (*Ipomea batatas* L.) *in vitro*. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*, 24, 13-18.

14. KANE M.E and ALBERT L.S., 1989. Abscisic acid induction of aerial leaf development in *Myriophyllum* and *Proserpinaca* species cultured *in vitro*. *J. Aquatic Plant Mgt.*, 27, 102-111.

15. MAPAYI E. F., OJO D. K., ODUWAYE O. A., PORBENI J. B. O., 2013. Optimization of *In-Vitro* propagation of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Genotypes. *Journal of Agricultural Science*. 5 (3), 1916-9760.

16. NDOUMOU D.O., FOSTO, OUMAR, DUCLAIRE M., 2003. Propagation d'*Irvingia gabonensis* par microbouturage *in vitro*. *Fruits*, 59(1), 31-38.

17. NG S.Y., 1990. Culture des tissus. Pp. 51-61 In : Institut International d'Agriculture Tropicale (ed.). *Le manioc en Afrique tropicale : un manuel de référence*. PMB 5320 Oyo Road. Ibadan, Nigeria.

18. NG C.Y., NORIHAN M.S., FARIDAH Q.Z., 2010. *In vitro* multiplication of the rare and endangered slipper orchid, *Paphiopedilum rothschildianum* (Orchidaceae). *Afr. J. Biotechnol.*, 9(14), 2062-2068.

19. NWEKE F., 1996. Processing Potential for Cassava Production Growth in Sub-Saharan Africa. *COSCA Working Paper No. 11. Collaborative Study of Cassava in Africa*, IITA Ibadan, Nigeria.

20. THRO A.M., HERAZO L.E., LENIS J.I., 1997. Flor de Yuca-Que florece un regi-n. Que puede hacer la biotecnologia para ayudar el pequeno productor de yuca en la Costa Norte de Colombia? ("What can biotechnology do to help the small farmer in the North Coast region of Colombia?"). *CIAT Working Document no. 164, 15p.*

21. WARDLE K., DOBBS E.B., SHORT K.C., 1983. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 108, 386-389.

22. WASSWA P., ALICAI T., MUKASA S.B., 2010. Optimisation of *in vitro* techniques for Cassava brown streak virus elimination from infected cassava clones. *African Crop Science Journal*, 18 (3), 235-241.

23. ZEEVAART J.A.D., CREELMAN R.A., 1988. Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 39, 439-473.