



**HAL**  
open science

# Culture in vitro, assainissement et indexation de la Collection Igname du Centre de Ressources Biologiques Plantes Tropicales des Antilles

Yoana Faure, Suzia Gelabal, Rose-Marie Gomez

► **To cite this version:**

Yoana Faure, Suzia Gelabal, Rose-Marie Gomez. Culture in vitro, assainissement et indexation de la Collection Igname du Centre de Ressources Biologiques Plantes Tropicales des Antilles. NOV'AE, 2022, Numéro Spécial 02, RARe, pp. 90-98. 10.17180/novae-2022-NS02-art11 . hal-04624267

**HAL Id: hal-04624267**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04624267v1>**

Submitted on 25 Jun 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

# Culture *in vitro*, assainissement et indexation de la Collection Igname du Centre de Ressources Biologiques Plantes Tropicales des Antilles

Yoana FAURE<sup>1</sup>  
Suzia GELABALE<sup>1</sup>  
Rose-Marie GOMEZ<sup>1</sup>

## CORRESPONDANCE

[yoana.faure@inrae.fr](mailto:yoana.faure@inrae.fr)

## RÉSUMÉ

La culture *in vitro* regroupe un ensemble de techniques permettant de régénérer, multiplier, conserver et assainir des plantes entières à partir de fragments de tissus végétaux, sur milieu artificiel et en conditions contrôlées pour l'éclairage et la température. Elle permet au Centre de Ressources Biologique Plantes Tropicales (CRB PT) de conserver plusieurs centaines d'accessions d'ignames, de bananiers, d'ananas et de cannes à sucre sous forme de vitroplants, dans les laboratoires de culture *in vitro* des Centres INRAE et CIRAD en Guadeloupe et en Martinique. La conservation *in vitro* des ignames s'y effectue en quatre étapes : l'introduction à partir de tiges d'ignames contenant des méristèmes, la multiplication par micro-bouturage et l'assainissement par thérapie thermique et culture de méristème, suivie de l'indexation virale. Ainsi, le CRB PT a développé sur l'igname 13 tests RT-PCR permettant la détection des virus à ARN et un test IC-PCR permettant la détection d'un virus à ADN, appelé badnavirus, qui existe aussi sous forme intégrée dans le génome de l'igname. L'objectif final de ces différentes techniques est la conservation, puis la diffusion de vitroplants indemnes de virus aux agriculteurs, chercheurs et autres demandeurs à l'échelle nationale et internationale.

## MOTS-CLÉS

Culture *in vitro*, igname, conservation, assainissement, indexation virale, CRB Plantes Tropicales.

---

<sup>1</sup> INRAE UR1321 ASTRO, 97170 Petit-Bourg, Guadeloupe, France.

# *In vitro* culture, sanitation and indexing of the Yam Collection of the Antilles Tropical Plant Biological Resource Center

Yoana FAURE<sup>1</sup>  
Suzia GELABALE<sup>1</sup>  
Rose-Marie GOMEZ<sup>1</sup>

## CORRESPONDENCE

[yoana.faure@inrae.fr](mailto:yoana.faure@inrae.fr)

## ABSTRACT

*In vitro* culture covers a number of techniques used to regenerate, propagate, conserve and sanitize whole plants from fragments of plant tissue in artificial medium and under controlled lighting and temperature conditions. It allows the Biological Resource Center for Tropical Plant (BRC TP) to preserve several hundred accessions of yam, banana, pineapple and sugar cane, in the form of vitroplants in the *in vitro* culture laboratories of the INRAE and CIRAD centers in Guadeloupe and Martinique. The *in vitro* preservation of yams is performed in four steps: the introduction using stems of yams containing meristems, multiplication by micrografting and sanitation using thermotherapy and meristem culture, followed by viral indexing. Thus, the BRC PT has developed for yam 13 RT-PCR tests to detect RNA viruses and one IC-PCR test to detect a DNA virus called badnavirus which exists in integrated form in the yam genome. The final aim of these different techniques is the preservation and then dissemination of virus-free vitroplants to farmers, researchers, etc. at the national and international scales.

## KEYWORDS

Vitroculture, yam, conservation, sanitation, viral indexing, BRC for Tropical Plants.

---

<sup>1</sup> INRAE UR1321 ASTRO, 97170 Petit-Bourg, Guadeloupe, France.

## Introduction

L'igname est une plante vivrière du genre *Dioscorea*, de la famille des *Dioscoreaceae*, qui regroupe environ 600 espèces (Degras, 1986). Elle produit des tubercules souterrains consommables pour les espèces domestiquées, des tiges volubiles et parfois des bulbes aériens qui peuvent également être consommés, mais qui sont préférentiellement utilisés comme semences. Bien que l'igname soit la troisième production en Guadeloupe, après la canne à sucre et la banane qui sont dédiées à l'exportation, sa production est en déclin. Elle est passée de 10 680 t en 2000 (FAOSTATS, 2021) à 2 157 t en 2019 (Agreste, 2020), soit une diminution de près de 80 % en presque 19 ans. Une des principales raisons est la sensibilité de cette culture aux bioagresseurs, comme le champignon responsable de l'anthracnose, les nématodes, mais également les virus (Barlagne *et al.*, 2017). La demande des consommateurs est donc en partie satisfaite par l'importation.

L'un des premiers objectifs du Centre INRA Antilles-Guyane, à sa création en 1949, était la constitution d'un stock de ressources végétales des Caraïbes. En tant que culture vivrière majeure, une collection d'ignames anciennes et traditionnelles a vu le jour dans la station d'amélioration des plantes, puis dans les jardins créoles des ouvriers agricoles du Centre. Certaines variétés ont une très grande valeur patrimoniale, car elles ont été apportées en Guadeloupe comme « plantes de garde » sur les bateaux transportant les esclaves venant d'Afrique à partir de 1674. La collection s'est ensuite enrichie des échanges de matériel au sein des Caraïbes, de prospections plus lointaines (Nouvelle-Calédonie, Côte d'Ivoire, Nigéria, etc.) et des programmes de création variétale.

À partir des années 1980, des chercheurs à l'INRA de Guadeloupe ont commencé à mener des travaux sur la culture *in vitro* d'igname (Lacointe & Zinsou, 1987 ; Arnolin, 1988 ; Arnolin *et al.*, 1989). L'objectif était de développer cette technique pour en faire une alternative au maintien et à la multiplication de l'igname au champ, dont le cycle de culture est de neuf mois avec une gestion de l'enherbement très chronophage. De plus, la culture *in vitro* nécessite moins d'espace et permet d'obtenir, en moins de temps, un grand nombre de plants, appelés vitroplants, d'une même accession. Pour la collection Igname, une accession est un entité immatérielle unique, identifiée par un code, un nom et des informations associées (par exemple, celles en lien avec son acquisition), et qui représente l'ensemble des échantillons obtenus par multiplication végétative d'un même génotype de départ.

Le CRB Plantes Tropicales a officiellement été créé en 2010. Il est composé de six collections dont quatre sont gérées par le CIRAD : Bananier, Canne à sucre, Manguier et Ananas, et deux sont gérées par INRAE : Igname et Herbier de Guadeloupe. Les missions de la collection Igname sont, entre autres, de conserver des variétés et de les assainir, pour pouvoir fournir aux professionnels et aux équipes de recherche du matériel végétal sain. Ces procédures s'appuient sur le laboratoire de culture *in vitro* pour la multiplication des vitroplants et l'élimination des virus, par thérapie et culture de méristème, et sur le laboratoire de biologie moléculaire pour l'indexation virale qui consiste à tester, par des outils de biologie moléculaire, la présence des virus infectant la plante.

## La conservation *in vitro*

Il s'agit de conserver le matériel dans des conditions de culture (milieu, température, photopériode) réduisant la vitesse de croissance des plantes, limitant ainsi le nombre de repiquages. Les repiquages permettent de ne pas perdre les accessions, en régénérant de nouveaux vitroplants à partir des nœuds et en fonction du dépérissement des vitroplants et/ou de l'épuisement du milieu de culture.

Au 31 décembre 2020, la collection Igname comportait 433 accessions dont 418 en culture *in vitro*, soit 97 % de la collection. Cinq espèces sont majoritairement représentées : *Dioscorea trifida*, *Dioscorea alata*, *Dioscorea cayenensis-rotundata*, *Dioscorea esculenta* et *Dioscorea bulbifera*. L'objectif est d'avoir la totalité de la collection en culture *in vitro*, mais des pertes d'accessions sont possibles en raison de problèmes de contamination et de dysfonctionnements des infrastructures. Elles sont alors réintroduites quand il existe un double de sécurité, par exemple, conservé au champ (conservation *in vivo*). Pour des raisons de sécurisation du matériel et en lien avec l'utilisation de ces vitroplants (assainissement, multiplication pour fournitures, sevrages, etc.), un lot d'une même accession en culture *in vitro* est composé de 12 vitroplants portant le même identifiant.

## L'introduction en culture *in vitro* à partir de tiges

L'introduction en conservation *in vitro* d'une accession se fait généralement à partir d'une tige issue d'un morceau de tubercule (semenceau) planté en chambre climatique, qui a poussé en conditions contrôlées : photopériode de 16 h et température de 25 °C. Le semenceau peut également avoir été planté en serre ou au champ, mais les chances de réussite sont plus faibles car les risques de

contamination sont plus élevés. La tige doit posséder environ 10 nœuds, pour ne pas être trop jeune ou au contraire trop développée (Figure 1).



Figure 1. A) Photo d'un plant d'igname cultivé en chambre climatique en attente d'une introduction en culture *in vitro*. B) Photo de deux nœuds sur la même tige.

La méthode utilisée (Figure 2) permet l'élimination des bactéries et des champignons que la plante peut contenir et qui empêcheraient le futur vitroplant de se développer. Dans la chambre climatique et à l'aide d'un scalpel, une dizaine de nœuds sont prélevés par accession et leurs feuilles sont retirées. Chaque morceau de tige portant au moins un nœud est une bouture. Toutes les boutures d'une même accession sont ensuite disposées dans un bocal, en veillant à reporter l'identifiant de chaque accession.

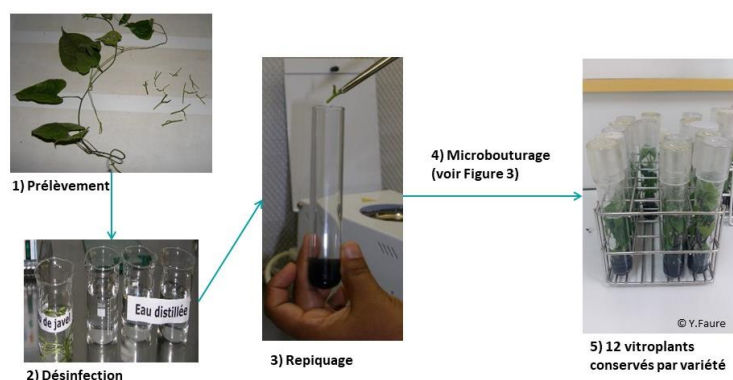


Figure 2. Étapes de bouturage de tige d'igname pour une introduction en culture *in vitro*

Le matériel est transféré dans le laboratoire de culture *in vitro* et de l'alcool à 70° est versé dans chaque bocal. La suite de la manipulation nécessite de travailler en milieu stérile sous une hotte à flux laminaire. Après 10 minutes de trempage, l'alcool est retiré, puis de l'eau de Javel à 2,6 % de chlore actif est versée dans le bocal pour réaliser un bain de 20 minutes. Cette désinfection est suivie de trois rinçages à l'eau déminéralisée stérile. Un premier rinçage rapide permet de retirer une grande partie de l'eau de Javel. Les deux rinçages suivants se font en laissant tremper les

boutures respectivement 10 minutes, puis 20 minutes, en renouvelant à chaque fois l'eau stérile.

Les boutures sont ensuite déposées sur un papier carton stérile. Les extrémités de chaque bouture, endommagées par l'eau de Javel, sont découpées à l'aide d'un scalpel stérile. Entre chaque accession, les outils (scalpels et pinces) sont désinfectés à l'aide d'un stérilisateur à bille. Les boutures sont ensuite placées dans un tube en verre contenant 10 mL de milieu de culture de croissance (Tableau 1), puis les tubes sont conservés en chambre de culture à 25 °C, avec une photopériode de 12 h, jusqu'à l'obtention de tiges.

**Tableau 1 : Composition d'un litre de milieu de croissance pour la culture de l'igname**

COMPOSÉS	POUR D. ALATA ET D. CAYENENSIS-ROTUNDATA	POUR D. TRIFIDA
Solution MacroMS 10X	100 mL	100 mL
Solution MicroMS 1000X	1 mL	1 mL
Solution FeEDTA 200X	5 mL	5 mL
Solution Vitamine de Morel 500X	2 mL	2 mL
Solution de Cystéine 200X	5 mL	/
Saccharose	30 g	30 g
BAP à 1 mg/mL	1 mL	0,1 mL
L-Glycine	/	100 mg
L-Glutamine	200 mg	200 mg
Agar	7 g	7 g
Charbon actif	2 g	2 g
Eau filtrée	qsp 1 L	qsp 1 L

Parmi la dizaine de tubes mis en chambre de culture, des pertes par contaminations peuvent survenir. L'objectif est d'obtenir au moins une plante développée constituée de racines et de feuilles en plus de la tige, à partir de laquelle un micro-bouturage pourra être effectué pour obtenir 12 tubes. La durée de ces deux étapes de croissance, avant et après le micro-bouturage, varie en fonction de l'aptitude de chaque plante à redémarrer sa croissance malgré le stress de la mise en culture. En général, la deuxième étape dure environ deux mois. Les 12 tubes sont ensuite placés dans la chambre de culture de la collection. À partir de cette étape, l'accession est considérée comme introduite dans la collection avec succès.

### L'entretien de la collection en culture *in vitro*

L'entretien de la collection conservée en chambre de culture nécessite des repiquages réguliers (tous les 8 à 12 mois

en fonction des accessions), une surveillance de la santé des vitroplants (contaminations, épuisement du milieu de culture, plants trop développés ou au contraire ne se développant pas) et un contrôle des conditions de température, d'humidité et de luminosité.

### Préparation du milieu de culture de croissance

Le milieu synthétique sur lequel sont cultivés les vitroplants permet de répondre de façon optimale à leurs besoins nutritifs. La composition de départ a été mise au point par des chercheurs tels que Mantell & Hugo (1989), et peut être adaptée à une espèce, voire à un cultivar.

Pour être plus précis, la méthode ci-dessous présente la manipulation avec préparation des solutions-mères de macroéléments MS, de microéléments MS et de FeEDTA (Murashige & Skoog, 1962), pour la préparation de 1 L de milieu de culture (Tableau 1). Une poudre de ce milieu prêt à l'emploi, qui contient aussi les vitamines de Morel (MO222), est également disponible dans le commerce (Khalys, Montpellier, France).

Pour réaliser le milieu de culture, tous les réactifs, sauf l'agar et le charbon actif, sont mélangés dans un bécher de 1 L, sur un agitateur magnétique. Le pH de la solution est amené entre 5,6-5,7 avec quelques gouttes de NaOH 1N, et le volume de la solution est ajusté à 1 L avec l'eau filtrée.

L'agar et le charbon actif sont ajoutés dans une bouteille de laboratoire de 2 L dans laquelle la solution préparée précédemment est versée. Le tout est stérilisé par autoclavage, à 121 °C pendant 20 min, avec les tubes à essai qui recueilleront le milieu.

Une fois l'autoclavage réalisé, le milieu de culture est distribué dans les tubes à essai à l'aide d'un distributeur de milieu à raison de 10 mL par tube, sous hotte à flux laminaire.

### Micro-bouturage des plants

Le micro-bouturage consiste à découper les vitroplants en plusieurs boutures qui donneront chacune un nouveau plant génétiquement identique à la plante-mère (clone).

En général, les vitroplants à repiquer sont âgés de 8 à 12 mois, mais il peut également s'agir de plants présentant des signes de dépérissement ou d'accessions pour lesquelles moins de 6 vitroplants sont disponibles.

La vérification visuelle de l'état des vitroplants de chaque accession doit être faite régulièrement, à raison d'une fois par semaine.

### Mode opératoire (Figure 3)

Pour les accessions dont le stock de vitroplants est infé-

rieur ou égal à 6, tous les vitroplants sont utilisés pour le micro-bouturage. Dans le cas contraire, on choisit jusqu'à 4 vitroplants parmi les plus vigoureux.

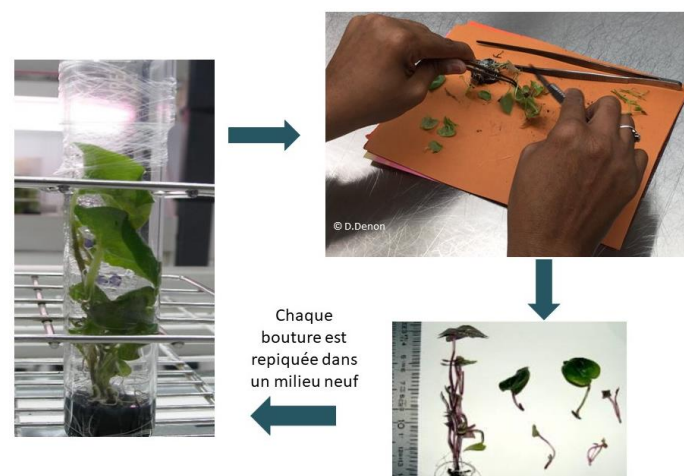


Figure 3. Conservation de vitroplants d'igname en culture *in vitro* : schéma représentant les étapes de la multiplication

La manipulation se fait sous la hotte à flux laminaire en conditions stériles.

Les vitroplants sont sortis de leur tube de culture et déposés sur une feuille cartonnée, afin de prélever un maximum de micro-boutures, l'objectif étant d'en obtenir au moins 12 par accession. À l'aide d'un scalpel, les nœuds comportant chacun un méristème sont découpés et placés dans un tube contenant du milieu de croissance neuf. Le méristème est un amas de cellules totipotentes, c'est-à-dire capables d'engendrer n'importe quel tissu végétal, à partir desquels une plante entière peut-être régénérée. Si les nœuds comportent de jeunes feuilles, celles-ci sont conservées. Les feuilles âgées ou abîmées sont retirées.

Pour finir, une étiquette comportant l'identifiant de l'accession est apposée sur chaque tube. Ces derniers sont ensuite placés dans une chambre de culture à 25 °C avec une photopériode de 12 h.

Un relevé des contaminations est effectué 2 jours après le repiquage, puis 10 jours après et, enfin, 20 jours après.

Si au bout de 2 mois les microboutures présentent un développement racinaire correct, le reste du lot initial de vitroplants est éliminé. Sinon, ce dernier est utilisé pour faire un nouveau micro-bouturage.

### L'assainissement de la collection

L'indexation régulière et complète par outils moléculaires de la collection *in vitro* d'igname a révélé que 93 % des accessions contenaient un ou plusieurs virus. De plus, au fil des années, les outils de détection virale se sont améliorés et ont augmenté en sensibilité révélant non seulement de



nouvelles accessions infectées, mais aussi la présence de nouveaux virus encore non identifiés sur igname. En réponse à ce constat, le CRB a mis en place des techniques d'assainissement en culture *in vitro*, à savoir la thermothérapie couplée à la culture de méristème (Umber *et al.*, 2020). Elles sont complémentaires et permettent l'élimination partielle ou complète des virus infectant un vitroplant. La première consiste à faire pousser des explants d'igname dans une enceinte thermostatée à 34 °C, ce qui ralentit la réplication virale. La seconde vise à exciser les méristèmes apicaux, naturellement indemnes de nombreux virus, afin de régénérer un vitroplant sain.

Ces deux techniques doivent être effectuées successivement (Figure 4).

### Thermothérapie et culture de méristème (Figure 4)

#### Thermothérapie

La première étape consiste à multiplier une série de 12 accessions issues de la collection *in vitro*. L'objectif est d'obtenir au moins 4 vitroplants par accessions, qui seront appelés « plantes mères ».

Après deux mois de croissance, ces vitroplants sont découpés en 20 boutures qui sont ensuite placées dans des boîtes vitrovent (Dutscher, Illkirch, France) contenant le milieu de croissance. Chaque boîte contenant les 20 boutures d'une même accession est placée dans une enceinte thermique chauffée à 34 °C, avec une photopériode de 12h, pendant deux mois.

#### Culture de méristèmes

Au bout des deux mois, les boîtes sont retirées de l'enceinte thermique et le morceau de tige portant le méristème apical de chaque plante est découpé puis déposé dans une boîte de Pétri vide.

Le méristème étant très petit (moins de 1 mm), la suite des manipulations s'effectue sous loupe binoculaire pour retirer, à l'aide d'une pointe de scalpel, les tissus de la tige et le plus d'ébauches foliaires possible. Les tissus cellulaires autres que ceux des méristèmes ont, en effet, plus de risque d'être contaminés.

Les 20 méristèmes prélevés par accession sont ensuite déposés sur un milieu de régénération (Umber *et al.*, 2020), préparé dans des petites boîtes de Petri, pour permettre l'obtention d'une nouvelle plante. Les boîtes sont placées dans une chambre de culture à 25 °C et avec une photopériode de 16 h.

Si les boîtes ne sont pas contaminées, les 20 méristèmes prélevés permettront la régénération de 20 mériplants, c'est

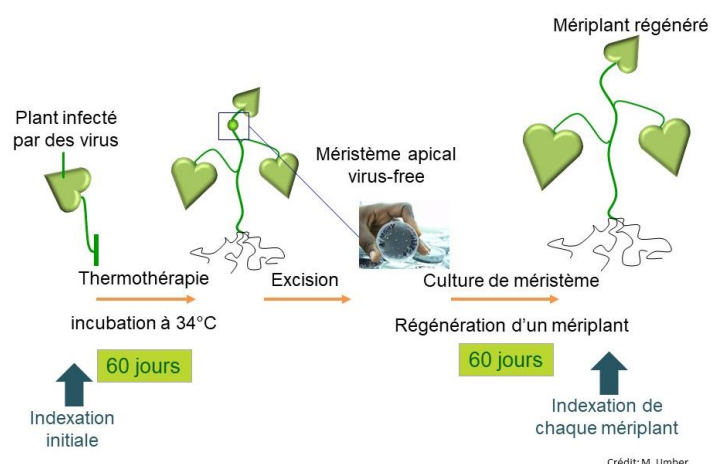


Figure 4. Étapes de l'assainissement d'une accession d'igname à partir d'un vitroplant

à dire des vitroplants issus de méristèmes, au minimum au bout d'un mois de culture. Les mériplants sont alors repiqués dans des tubes contenant du milieu de croissance. Une fois les mériplants suffisamment développés pour être prélevés et repiqués, ils sont indexés avec la plante-mère, à l'aide de tests de détection moléculaires, afin de vérifier l'élimination des virus.

#### Indexation virale

Aujourd'hui, 13 tests permettant la détection de virus à ARN et 1 test permettant la détection de virus à ADN ont été développés par le CRB (Tableau 2).

Tableau 2 : Liste des 14 virus ou groupe de virus ciblés par les tests de détection développés par le CRB Plantes Tropicales sur igname

GÉNOME	FAMILLE	GENRE	VIRUS CIBLÉS
Virus à ARN	Alphaflexiviridae	Potexvirus	potexvirus d'igname
			yam virus X (YVX)
	Betaflexiviridae	non assigné	tout le genre
			yam virus Y (YVY)
	Bromoviridae	Cucumovirus	cucumber mosaic virus (CMV)
	Closteroviridae	Ampelovirus	air potato virus 1 (AiPoV1)
			yam asymptomatic virus 1 (YaV1)
		Velarivirus	Cordylina virus 1 (CoV1)
	Potyviridae	Macluravirus	macluravirus d'igname
			tout le genre
Potyvirus		yam mosaic virus (YMV)	
Secoviridae	Sadwavirus	yam mild mosaic virus (YMMV)	
		Dioscorea mosaic associated virus (DMaV)	
Virus à ADN	Caulimoviridae	Badnavirus	tout le genre

## Étapes spécifiques à la détection des virus à ARN

(Umber *et al.*, 2020 ; Figure 5)

Pour détecter des virus à ARN, la première étape consiste à extraire, par broyage et élimination des autres composants de la plante, la totalité du matériel génétique, aussi bien celui de la plante que celui des virus. Cette technique est appelée extraction de TNA (acides nucléiques totaux : ADN + ARN).

Les virus à ARN sont ensuite détectés par RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymérase Chain Reaction). L'ARN ne pouvant pas être amplifié directement par PCR, les génomes viraux sont d'abord transformés en ADN complémentaires (ADNc) par une enzyme rétrotranscriptase. Ensuite, l'amplification des génomes de chacun des virus est réalisée par PCR, à l'aide d'amorces génériques et/ou spécifiques, afin d'obtenir en grande quantité les séquences virales ciblées.

## Étapes spécifiques à la détection des virus à ADN

(Umber *et al.*, 2017 ; Figure 6)

La particularité de la détection des virus à ADN du genre Badnavirus réside dans le fait que ces virus peuvent être présents sous deux formes chez l'igname : les particules virales libres dans les cellules de la plante et les séquences virales intégrées dans le génome de la plante. La forme que nous voulons détecter ici, car potentiellement infectieuse, est celle des particules virales. Afin de ne pas obtenir des faux positifs dus à la présence de séquences virales insérées dans le génome de la plante, les particules virales ciblées vont être piégées par des anticorps qui fixent les protéines de la capsid virale. Cette étape est appelée immunocapture. Le matériel génétique de la plante est ensuite éliminé par un traitement spécifique qui ne détruit pas celui des particules virales, lequel est protégé par la capsid.

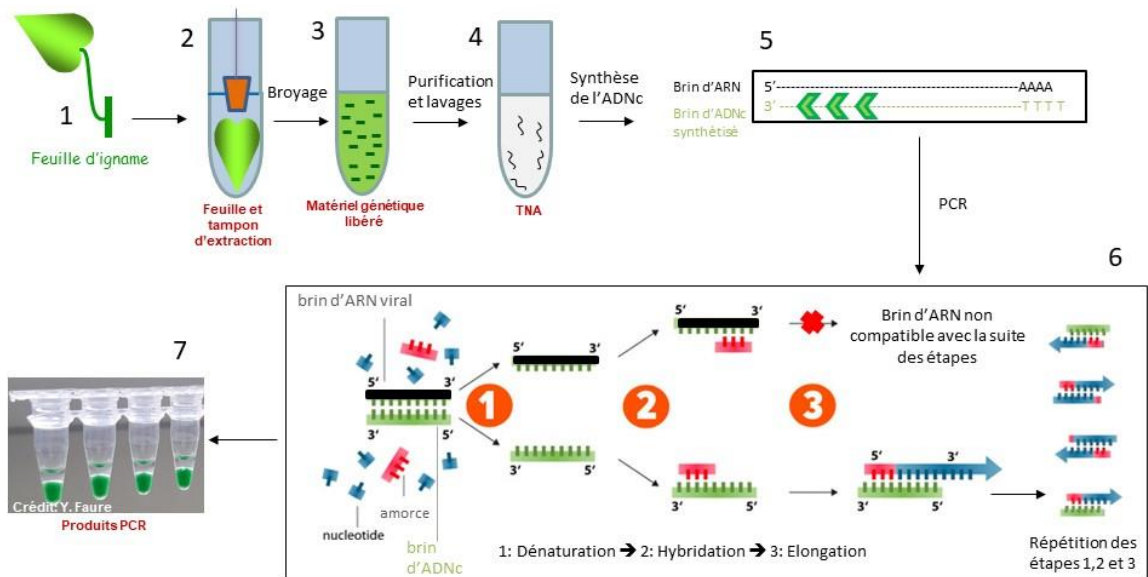


Figure 5. Étapes de détection des virus à ARN par RT-PCR

Crédit: R.-M. Gomez et Y. Faure

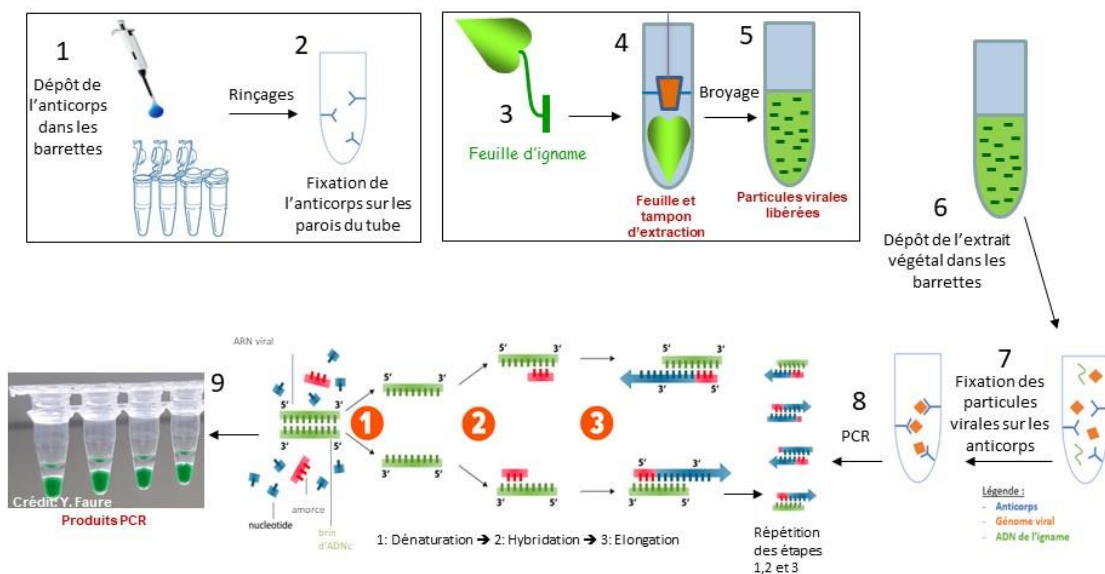


Figure 6. Étapes de détection des virus à ADN par IC-PCR

Crédit: R.-M. Gomez et Y. Faure



Une PCR classique est ensuite effectuée afin d'obtenir, en grande quantité, les séquences virales ciblées.

### Étapes communes

Pour finir, les séquences d'ADN générées par la PCR, et appelées produits PCR, sont déposées sur un gel d'agarose et révélées sur une table à UV, après application d'un courant. En effet, l'ADN est chargé négativement et migre donc vers le pôle positif à une vitesse qui dépend de la taille des produits PCR. Plus les produits PCR sont petits et plus ils migrent vite. Leur taille est estimée grâce au marqueur de taille (Figure 7), ce qui permet l'identification des virus.

La Figure 7.A montre les résultats d'une migration sur gel d'agarose après une PCR de détection de YMV sur 3 méridants d'une même accession après assainissement. L'absence de signal pour le méridant 1 montre qu'il est assaini pour ce virus.

De la même façon, en Figure 7.B, la révélation de la PCR de détection des badnavirus sur une autre accession montre que le méridant 2 est assaini pour les badnavirus

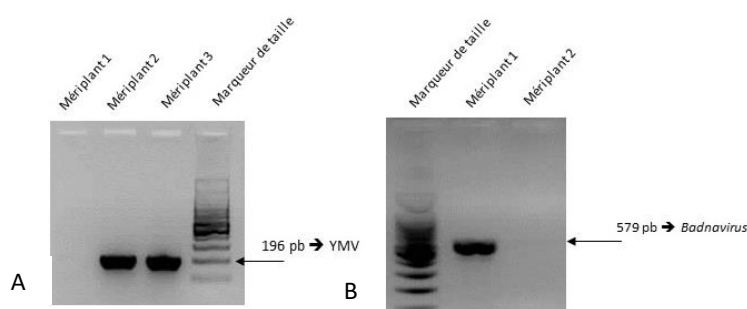


Figure 7. Exemples de photos de gel après migration de différents produits PCR

### Conclusion

La conservation *in vitro* est effectivement moins contraignante que la conservation au champ (espace plus réduit et entretien moins chronophage). Cependant, les moyens humains, financiers et structurels imposent des limites quant au nombre d'accessions conservées. Connaître la variabilité génétique au sein des différentes espèces est un de nos objectifs pour les années à venir. Ces informations nous permettraient d'orienter nos choix si nous devons réduire le nombre d'accessions conservées ou encore lors de l'introduction de nouvelles variétés et la fourniture de matériel aux bénéficiaires de la collection.

Aujourd'hui, le statut viral de 396 accessions en culture *in vitro* est connu pour 8 virus, et 16 accessions ont été assainies avec succès pour ces mêmes virus (CMV, DMaV, YaV1, YMV, YMMV et les genres Badnavirus, Macluravirus et Potexvirus).

La technique d'assainissement combinant la thermothérapie et la culture de méristème est une méthode longue et compliquée à gérer avec un taux de réussite variable. En effet, elle a une efficacité de 100 % pour l'élimination des macluravirus, retrouvés principalement sur *D. alata* avec 14,5 % de prévalence dans la collection (Umber *et al.*, 2020). En revanche, le taux d'assainissement de YaV1 et de YMMV est très faible (14,5 % et 24,9 %, respectivement), alors que la prévalence de ces virus est très élevée dans la collection (par exemple 82,1 % sur *D. alata* pour YaV1 et 72,1 % sur *D. trifida* pour YMMV). Or, il est conseillé et parfois imposé, surtout à l'international, que le matériel fourni par le CRB soit exempt de virus. Ces observations montrent le besoin de développer des techniques potentiellement plus efficaces sur igname, comme par exemple la cryothérapie qui utilise le traitement à l'azote liquide sur des méristèmes pour éliminer les virus.

À l'échelle du laboratoire, la découverte régulière de nouveaux virus complique l'établissement du statut viral des accessions ainsi que leur assainissement. Mais à l'échelle internationale, ce sont les échanges de matériel biologique qui sont impactés. ■

# Remerciements

Nous tenons à remercier Marie UMBER et Michel ROUX-CUVELIER pour leur relecture attentive.

# Références

Agreste Guadeloupe, 2020. Mémento de la statistique agricole. Disponible en ligne :

[https://daaf.guadeloupe.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/memento\\_2020\\_internet\\_cle4814fe.pdf](https://daaf.guadeloupe.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/memento_2020_internet_cle4814fe.pdf)

Arnolin R., 1988. VII' Symposium of the International Society for Tropical Root Crops, Gosier (Guadeloupe), 1-6 July 1985, Ed. INRA, Paris, 1988.

Arnolin R., Gamiette F. et Degras L., 1989. L'obtention de plantules d'igname (*D. alata* et *D. cayenensis-rotundata*) par culture d'embryons *in vitro*. Caribbean Food Crops Society > 25th Annual Meeting, July 1-6, 1989, Gosier, Guadeloupe. <https://ageconsearch.umn.edu/record/260002/>

Barlagne C., Cornet D., Blazy J.M., Diman J.L. and Ozier-Lafontaine H. Consumers' preferences for fresh yam: A focus group study. Food Sci. Nutr. 2017, 5, 54-66. <https://doi.org/10.1002/fsn3.364>.

Degras L., 1986. L'igname. France : G.-P. MAISONNEUVE ET LAROSE A.C.C.T.

FAOSTAT. Disponible en ligne : <http://www.fao.org/faostat/> (19.07.2021).

Lacointe A. et Zinsou C., 1987. Effet de la date de plantation sur la croissance et le développement de plantules d'igname (*Dioscorea alata* L.) produites par culture *in vitro*. Agronomie, EDP Sciences, 1987, 7 (7), pp.475-481. <https://hal.inrae.fr/hal-02722349v1>.

Mantell S. H. & Hugo S. A., 1989. Effects of photoperiod, mineral medium strength, inorganic ammonium, sucrose and cytokinin on root, shoot and microtuber development in shoot cultures of *Dioscorea alata* L. and *D. bulbifera* L. yams. Plant cell, tissue and organ culture, 16(1):23-37.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Plant Physiology, 15, 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

UMBER M., GOMEZ R.-M., GÉLABALE S., BONHEUR L., PAVIS C. and TEYCHENEY P.-Y., 2017. The genome sequence of *Dioscorea* bacilliform TR virus, a member of the genus *Badnavirus* infecting *Dioscorea* spp., sheds light on the possible function of endogenous *Dioscorea* bacilliform viruses. Archives of Virology, 2017, 162 (2), pp.517-521. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-3113-3>.

UMBER M., FILLoux D., GÉLABALE S., GOMEZ R.-M., MARAIS A., GALLET S., GAMINETTE F., PAVIS C. and TEYCHENEY P.-Y. Molecular Viral Diagnosis and Sanitation of Yam Genetic Resources: Implications for Safe Yam Germplasm Exchange. Viruses 2020, 12, 1101. <https://doi.org/10.3390/v12101101>.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA). <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « NOV'AE », la date de sa publication et son URL.