

# LA DIVERSITE GENETIQUE DU MANIOC : SON ORIGINE, SON EVALUATION ET SON UTILISATION

CHARRIER, A. & LEFEVRE, F.  
ORSTOM, 213 rue La Fayette,  
F 75480 PARIS, CEDEX 10, FRANCE

Plusieurs articles de synthèse (Byrne, 1984; Hahn *et al.*, 1979; Jennings et Hersey, 1985; Roca, 1983) et un ouvrage récent (Sylvestre et Arraudeau, 1983) ont été consacrés à l'amélioration et à l'agronomie du manioc. De ce fait, nous avons privilégié dans cette communication le thème de la diversité génétique du manioc, tout particulièrement en Afrique.

Après un bref rappel sur la structure du genre *Manihot*, la domestication du manioc et sa dispersion dans le monde, nous avons analysé :

- . l'origine de la diversité génétique du manioc,
- . la variabilité des cultivars,
- . les applications possibles des biotechnologies à l'amélioration du manioc.

## L'ORIGINE DU MANIOC ET DE SA CULTURE

### Le complexe d'espèces du genre *Manihot*

Le genre *Manihot* Mill. appartient à la famille des Euphorbiacées et comprend plus d'une centaine d'espèces possédant le même nombre chromosomique ( $2n=36$  chromosomes). Beaucoup de chercheurs se réfèrent actuellement à la classification taxonomique de Rogers et Appan (1973). Par une analyse multivariée des caractères botaniques des spécimens en herbarium, ils ont classé 98 espèces en 19 sections dont une seule espèce cultivée *M. esculenta* Crantz.

Beaucoup d'espèces sauvages sont héliophiles et pérennes, avec un port buissonnant et une distribution sporadique : elles se trouvent dans des régions tropicales de savane ou semi-arides. Certains taxa occupent volontiers des habitats perturbés par l'homme et se comportent comme des plantes adventices de formation récente. Par contre, des espèces arbustives de *Manihot* (Section *Arboreae*) ont des aires limitées et sont considérées comme ancestrales.

Le genre *Manihot* est originaire du Nouveau Monde, avec une extension géographique depuis le Sud des Etats-Unis (Arizona) au Nord de l'Argentine. Les espèces se répartissent en groupes géographiques plus ou moins disjoints et riches en espèces sauvages. On peut distinguer 5 zones primaires de diversité (Figure 1) :

- l'Amérique centrale
- le plateau central du Brésil
- le nord-est brésilien
- le sud-ouest brésilien et le Paraguay
- la Colombie et le Venezuela.



Fig. 1 : Zones primaires de diversité des espèces du genre *Manihot* (IPBGR).

La diversification du genre *Manihot* résulte de plusieurs processus actifs à des époques différentes :

- les changements bioclimatiques, et en particulier les zones refuges de la flore et de la faune à la fin de la dernière glaciation (Vuilleumier, 1971),
- les migrations humaines, avec leur cortège de plantes vivrières, à l'époque précolombienne (Nassar, 1978),
- des échanges géniques intra et interspécifiques, phénomène actif et continu au cours du temps.

L'étude des ressources génétiques et de l'organisation évolutive du genre *Manihot* en Amérique mérite une attention toute particulière. Des régions de haute priorité ont été prospectées dans les années 80 : Brésil (Nassar, 1980), Colombie, Venezuela, Pérou, Mexique (1982-83).

Ces collectes doivent être poursuivies pour mieux appréhender la situation des populations naturelles en relation avec l'écologie, et limiter les effets de l'érosion génétique (propositions IBPGR 1983).

### La domestication et la dispersion du manioc

*M. esculenta* est un cultigène domestiqué en Amérique et inconnu à l'état sauvage. Les ancêtres du manioc cultivé ont été des plantes à racines tubéreuses consommées par l'homme lors de ses migrations en Amérique. Quelques études ethnobotaniques permettent de penser que le manioc était utilisé au Nord-Ouest de l'Amérique du Sud, 2 à 4000 ans av. J.C. Récemment, Ugent *et al.*, (1986) ont décrit des fossiles de manioc provenant de la vallée de Casma au Pérou, datés au carbone 14 de l'époque 1500-1800 av. J.C. En outre, le manioc semble avoir été domestiqué à plusieurs reprises, dans des zones différentes de l'Amérique (origine non-centre).

Les caractères de domestication du manioc sont les suivants (Jennings, 1976) :

- de grosses racines tubéreuses pour le stockage de l'amidon, avec une amertume marquée (Brésil, Vénézuéla, Colombie) ou faible (Pérou),
- un port érigé et peu de ramifications; ce caractère étant lié à la floraison, la domestication entraîne une réduction du nombre de fleurs,
- l'aptitude à la multiplication par boutures, caractère favorisé par les réserves stockées au niveau des axes caulinaires; en outre, la reproduction sexuée n'est plus prise en considération (plants stériles).

La dispersion du manioc en Amérique a favorisé l'accroissement de sa diversité génétique sur place. Comme d'autres plantes originaires du Nouveau Monde, son introduction en Afrique et en Asie est historiquement récente, après la découverte de l'Amérique par Ch. Colomb. La figure 2 résume les principales voies de dispersion intercontinentale :

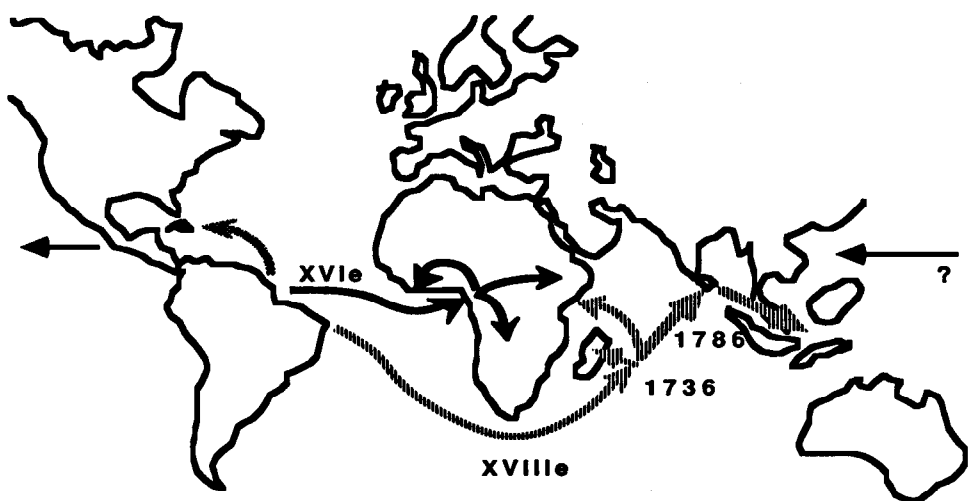


Fig. 2 : Dispersion du manioc dans le monde.

- En Afrique, on reconnaît deux introductions principales, l'une dans le golfe de Guinée, en Afrique centrale, dans la 2ème moitié du XVIème siècle, l'autre dans la région malgache puis la côte africaine orientale au cours du XVIIIème siècle. Sur la base d'informations ethnobotaniques, Kent (1969) situe l'arrivée du manioc à Madagascar avec les migrations des populations d'Afrique orientale au XVIème. Le manioc s'est répandu sur le continent africain dans la 2ème moitié du XIXème siècle et surtout au XXème siècle. L'extension récente de cette culture a été encouragée par la constitution de réserves alimentaires sur pied (famines), la tolérance de la plante à la sécheresse et aux criquets. L'étude comparative de Jones (1959) sur le Congo, la Guinée et l'Afrique orientale situe bien la place du manioc en Afrique.

- En Asie, le manioc aurait été introduit directement du Mexique vers les Philippines, et indirectement à partir des Iles Mascareignes via Ceylan (1786), l'Inde (1794) et l'Asie du Sud-est.

Par ailleurs, quelques espèces sauvages arbustives du genre *Manihot* produisant du latex ont été introduites en Afrique. Il s'agit principalement de *M. glaziovii* provenant du Brésil. La prospection de Cross en 1876 a été largement diffusée par Kew Gardens. Au début de ce siècle, on cultivait de l'ordre de 50.000 ha de *M. glaziovii* en Afrique de l'Est et on l'utilisait de façon plus limitée en Afrique occidentale (parfois comme arbre d'ombrage). Les espèces *M. dichotoma* et *M. piauhyensis* n'ont pas été jugées satisfaisantes pour la production de latex.

Ces migrations vers l'Afrique et l'Asie ont entraîné un effet de fondation, avec une diversité limitée par rapport à celle qui existait en Amérique. Depuis le Vème siècle, une intense diversification s'est produite sur place.

## ORIGINE DE LA DIVERSITE DU MANIOC

La diversification génétique du manioc est liée aux facteurs suivants :

### Des processus actifs d'introgession

Les espèces sauvages de *Manihot* sont souvent isolées, mais elles semblent s'hybrider aisément quand elles se trouvent en contact. Nassar (1948) l'a bien mis en évidence au Brésil : *M. reptans* et *M. alutacea* se croisent naturellement dans les zones perturbées, avec une introgession progressive en direction de *M. reptans*.

De même, dans les zones d'origine du manioc, les formes cultivées peuvent aussi s'intercroiser avec les espèces sauvages locales et donner naissance à des "essaims" d'hybrides variés; ceux-ci évoluent vers des formes adventices ("weed" au sens de Harlan, 1971), colonisant les zones anthropisées.

De tels échanges génétiques existent aussi en Afrique entre cultivars locaux et espèces sauvages introduites. Au cours de prospections récentes en Côte d'Ivoire, Lefèvre (1987) a mis en évidence l'existence d'hybrides interspécifiques spontanés issus de *M. esculenta* x *M. glaziovii*. L'observation de caractères morphologiques (forme et taille des fruits, des graines, des feuilles, tubérisation) suggère la présence d'une population d'hybrides très diversifiés (figure 3).

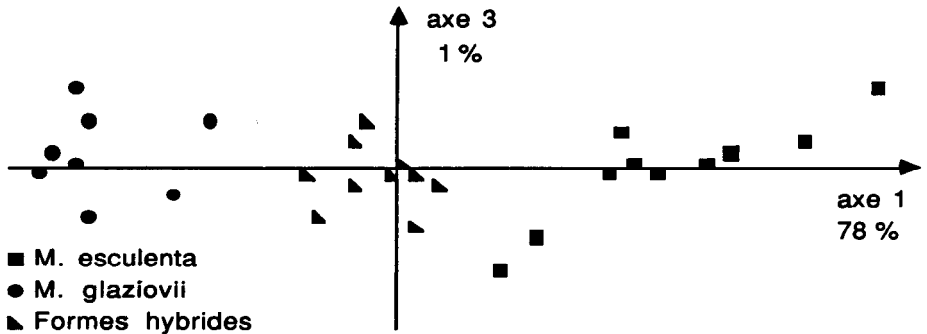


Fig. 3 : Introgession entre manioc cultivés et manioc *M. glaziovii*.

## Un régime de reproduction allogame développé par une plante à structure polyploïde

L'agriculture traditionnelle à base de manioc (mosaïque de cultivars) favorise la recombinaison génétique entre cultivars à structure hétérozygote. Les descendance résultant d'auto et d'allopollinisation naturelle sont très polymorphes et l'effet d'inbreeding marqué.

Magoon *et al.*, (1969) ont contribué à accréditer l'hypothèse d'une origine polyploïde de l'espèce *M. esculenta*. Plus précisément, sa nature allotétraploïde segmentaire est en accord avec les faits suivants:

- appariement bivalent et hérédité disomique (avec quelques cas de gènes dupliqués),
- caryotype présentant 3 chromosomes nucléolaires et une duplication partielle des chromosomes portant sur 6 des 9 chromosomes du lot haploïde.

L'origine de cet allotétraploïde reste une énigme, toutes les espèces sauvages du genre *Manihot* étudiées à ce jour possédant 36 chromosomes.

### Une reproduction par voie végétative

Grâce à ce mode de multiplication, tout nouvel individu intéressant peut faire souche (clone). Cette pratique ancestrale permet d'exploiter la variabilité des resemis naturels selon des pressions sélectives variables dans le temps et dans l'espace. Par exemple, les plants non virosés issus de semis sont retenus pour renouveler le stock de boutures quand les cultivars du champ sont très malades. Ce processus est éminemment favorable à une diversification constante et à un ajustement aux nouvelles pressions parasitaires (exemple récent de la bactériose en Afrique Centrale).

### Les mutations somatiques

Peu d'auteurs y font référence (Léon, 1976; Martin, 1976) en l'absence de mise en évidence expérimentale.

En conclusion, le pool génétique du genre *Manihot* évolue dans son aire d'origine selon un schéma de sélection disruptive, avec accroissement de la diversité du pool cultivé (sélection humaine) et du pool sauvage (formes adventices). Il en résulte une situation complexe du point de vue taxonomique liée à l'évolution des formes sauvages et cultivées dans l'aire d'origine du manioc, mais aussi en Afrique.

Se référant à ces schémas évolutifs, il est tout indiqué d'exploiter en amélioration les possibilités de l'introggression avec les espèces sauvages et de la recombinaison entre cultivars. Cette option rend prioritaire la prospection, l'évaluation et la circulation des ressources génétiques du genre *Manihot* pour leur valorisation en sélection. Cette démarche n'est pas nouvelle et a donné les succès que l'on connaît en Afrique à partir des hybrides interspécifiques résistant aux viroses (Jennings, 1976). Les caractères agronomiques portés par les espèces sauvages de *Manihot* répondent à beaucoup de préoccupations des agronomes (Nassar, 1986) :

- résistance aux viroses et à la bactériose (*M. glaziovii*),
- haute teneur en protéines (*M. oligantha*),
- tolérance à la sécheresse, au froid et aux sols hydromorphes,
- réduction de la teneur en glucoside cyanhydrique (*M. gracilis*, *M. oligantha*),
- prolificité (*M. oligantha*, *tripartita*, *zehntneri*, *anomal*).

## DESCRIPTION DE LA DIVERSITE DES CULTIVARS

On a coutume de distinguer les cultivars de manioc d'après :

- leur teneur en glucoside cyanhydrique (manioc doux ou amers),
- la couleur de la chair de la racine (la chair jaune est souvent plus amère que la chair blanche),
- la longueur du cycle de culture (cultivars précoces et doux ou à cycle de 1 à 2 ans et amers).

Cette diversité des cultivars est souvent traduite par leur dénomination en langage vernaculaire.

Les centres de recherche qui pratiquent la sélection du manioc ont constitué des collections de cultivars locaux ou introduits (voir le répertoire IBPGR, 1980). Les plus importantes sont détenues par le Brésil (Embrapa), la Colombie (CIAT - 2600 souches), l'Inde, l'Indonésie, le Nigéria.

Les sélectionneurs réalisent des descriptions de leur collection avec deux objectifs principaux

- l'identification des cultivars basée sur des caractères morpho-physiologiques,
- leur utilisation dans la sélection en fonction de leurs caractéristiques agronomiques et de leur comportement vis-à-vis du milieu biotique et abiotique.

Ces descriptions exploitent en partie la liste de caractères recommandée par l'IBPGR (1983). Des études descriptives bien documentées ont été réalisées dans les collections de :

- Madagascar (Cours, 1951)
- Ghana (Doku, 1966)
- Vénézuéla (Montaldo, 1982)
- Mexique (Galindo, 1982)
- Brésil (Costa, 1983)
- Côte d'Ivoire (Zoundjihekpon, 1986).

Toutes ces études descriptives de la diversité sont très utiles en amélioration du manioc. Toutefois, leur intérêt pour décrire le génome des cultivars est limité :

- le nombre de descripteurs utilisés est important,
- l'expression des caractères morpho-physiologiques est très dépendante du milieu, des souches locales de parasites, de l'état sanitaire des collections,
- le déterminisme génétique des caractères n'est pas connu, ou de nature quantitative.

Pour toutes ces raisons, la description de la variabilité génétique a significativement progressé avec l'emploi des marqueurs biochimiques.

La première méthodologie mise en œuvre dans les années 70 repose sur le polymorphisme enzymatique lu en électrophorèse. Les marqueurs enzymatiques présentent le double avantage d'avoir des déterminismes génétiques simples et un comportement sélectivement neutre. Son application récente au manioc est due à Zoundjihekpon (1983), au CIAT (1985) et à Lefèvre (1987). Ce dernier auteur utilise actuellement 10 systèmes enzymatiques révélés sur gel d'amidon : 12 loci et 28 allèles ont été identifiés. Cette technique permet de démontrer :

- une hérédité simple de type diploïde,

- l'existence de gènes dupliqués (phosphogluconate deshydrogénase),
- des cas d'hétérozygotie fixée (phospho gluco-isomérase) et d'interactions entre loci (Malate deshydrogénase).

L'étude d'une collection de 168 cultivars ivoiriens illustre cette approche de la diversité génétique d'une collection :

- les 12 loci connus à ce jour identifient 78 génotypes électrophorétiques différents,
- 19 allèles ont une fréquence supérieure à 30%,
- les différentes combinaisons alléliques possibles peuvent exister, beaucoup à l'état hétérozygote.

Par l'analyse multivariée (figure 4), on démontre que les maniocs locaux de Côte d'Ivoire forment plusieurs groupes définis par des combinaisons particulières d'allèles communs. Cette structuration traduit bien leur apparentement génétique, la distance génétique entre groupes, et l'origine des groupes intermédiaires. Les variétés améliorées introduites dans ce pays présentent la même structuration, avec quelques combinaisons alléliques inédites.

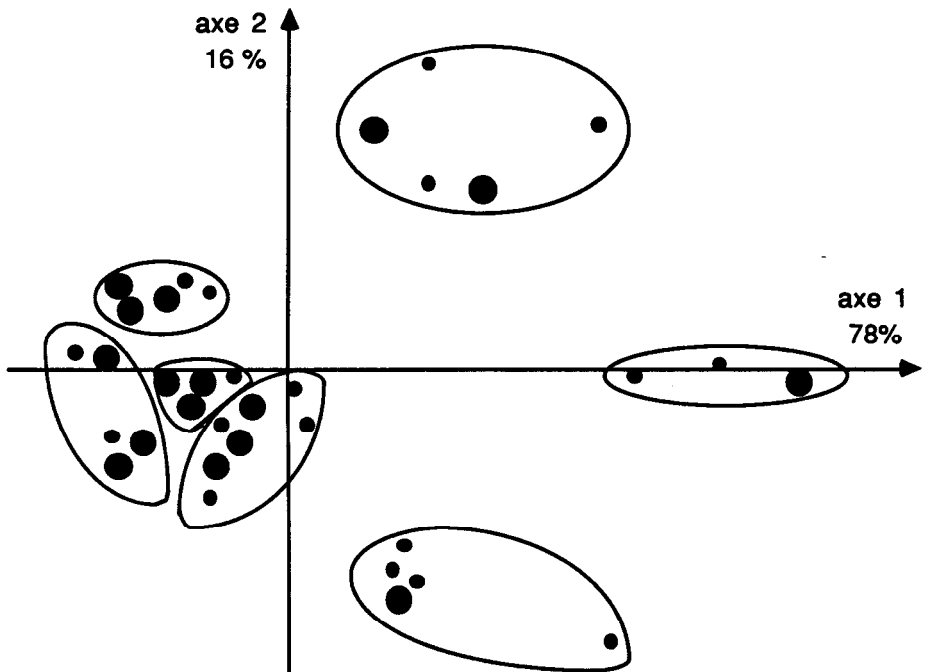


Fig. 4 : Structuration de la diversité enzymatique de 168 cultivars ivoiriens (AFC sur 10 allèles enzymatiques).

Les marqueurs enzymatiques permettent aussi de suivre les phénomènes d'hybridation interspécifique et d'introgression (figure 5 : Leucine amino-peptidase). Dans le cas des hybrides spontanés *M. esculenta* x *M. glaziovii*, on retrouve à chaque locus un allèle de chacune des espèces parentes. Une exception, l'un des hybrides, n'est pas différent au plan enzymatique de *M. esculenta* et traduit un retour avancé vers le parent cultivé. Inversement, des traces d'introgression plus anciennes peuvent être identifiées dans quelques cultivars (allèles rares, communs ou fixés chez *M. glaziovii*).

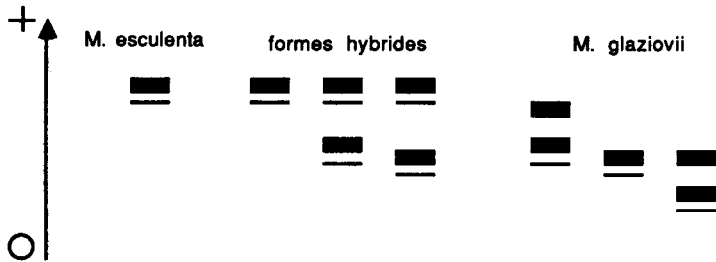


Fig. 5 : Marqueurs enzymatiques de l'introgression entre les maniocs cultivés et *M. Glaziovii* (zymogrammes de LAP).

La technique d'électrophorèse d'enzymes paraît la première approche biochimique efficace. D'autres marquages chimiotaxonomiques sont aussi utilisables (polymorphisme phénolique). Mais on se tourne surtout depuis le début des années 80 vers le marquage direct des génomes nucléaires, chloroplastiques et mitochondriaux.

Avec l'utilisation des enzymes de restriction et de sondes moléculaires, il est possible de repérer un fragment spécifique d'ADN et d'étudier son polymorphisme intra ou interspécifique. Par exemple, on sait distinguer les génomes chloroplastiques des parents et déterminer l'origine du cytoplasme des hybrides sexués, des introgressions et des hybrides (hybrides somatiques). L'analyse des fragments de restriction d'ADN mitochondrial est un outil commode pour distinguer les différents cytoplasmes, fertile ou mâle stérile. La détection d'un fragment d'ADN nucléaire par hybridation avec une sonde spécifique permet de révéler un polymorphisme, appelé RFLP (restriction fragment length polymorphism). Il peut être exploité pour :

- caractériser un cultivar (carte d'identité biochimique),
- marquer un caractère d'intérêt agronomique (à condition de disposer de la sonde moléculaire appropriée),
- établir une carte génétique détaillée d'une espèce végétale cultivée.

Dans le cas du manioc, de telles études moléculaires sur les ADN sont indispensables si l'on veut à terme tenter des manipulations génétiques.



## LES BIOTECHNOLOGIES APPLICABLES A L'AMELIORATION DU MANIOC

### Sanitation

Chez cette espèce cultivée à reproduction végétative, les risques inhérents aux maladies causées par des agents systémiques et transmis par bouturage sont bien connus sur la base des travaux de Martin et Morel. Les nouvelles techniques de multiplication végétative *in vitro* ont permis de retrouver un état sanitaire normal pour de nombreuses espèces multipliées végétativement. L'efficacité de la culture *in vitro* de méristèmes associée à la thérapie a été établie pour différentes viroses de manioc au cours des années 70 (Kantha, 1975; CIAT, 1980; IITA). Le problème important est de disposer de méthodes d'indexation fiables pour chaque souche virale; des progrès décisifs sont acquis dans ce domaine associé à la biologie moléculaire (tests sérologiques, anticorps monoclonaux). La dégénérescence progressive des cultivars de manioc fortement virosés affecte significativement leur développement végétatif, leur vigueur, leur production (estimation de pertes de 40 à 70%) et réduit les possibilités de l'évaluation agronomique. Au CIAT (1982), plusieurs centaines de clones sains existent. Cette technique de micropropagation du manioc permet en outre une multiplication végétative plus rapide des souches saines pour reconstituer des parcs à bois.

### Conservation des ressources génétiques

La culture *in vitro* du manioc résout de façon satisfaisante les difficultés de conservation et la diffusion des ressources génétiques. Tout sélectionneur connaît les problèmes posés par la maintenance de plusieurs centaines de cultivars dans une collection de plantes vivaces en champ (maladies et parasites, accidents climatiques...). La culture de méristèmes *in vitro* peut être exploitée à cette fin de 2 façons :

- la conservation de microboutures en croissance ralentie (20-22°) permet une conservation de 4-5 ans avec des repiquages périodiques; 1500 cultivars sont conservés au CIAT sous cette forme.

- La congélation de méristèmes protégés par cryoprotecteurs (DMSO, sucres) puis stockés dans l'azote liquide à -180°; par cette cryoconservation, KANTHA (1982) a obtenu une survie de 90% des méristèmes et une régénération de 10% des plantes. Cette conservation à long terme reste d'application délicate (technique, régénération).

### Culture *in vitro* de tissus et cellules

Si la micropropagation du manioc est techniquement passée dans la pratique, les autres modes de reproduction *in vitro* n'ont guère eu de succès à ce jour :

- la culture *in vitro* d'embryons immatures de manioc compléterait la conduite des travaux d'hybridation interspécifique; elle n'a pas été expérimentée.

- la régénération de plantes à partir de tissus a eu quelques succès chez le manioc. Le premier a été obtenu par Stamp et Henshaw (1982) par embryogenèse somatique à partir d'explants cotylédonnaires, avec d'importantes doses d'auxines favorables à l'induction de variants. De même, Mabanza et Jonard (1984) ont observé jusqu'à 95% de régénération par néoformation de bourgeons sur des cals issus de cotylédons de graines à maturité.

- la régénération de plantes à partir de cellules n'est pas opérationnelle. Les protoplastes de mésophylle foliaire évoluent en microcolonies et microcals, mais la régénération ne s'oriente qu'occasionnellement vers la formation d'axes caulinaires (Shahin et Shepard, 1980).

- l'obtention de plantes haploïdes, si utile pour l'analyse des génomes et la fixation des caractères à l'état homozygote, n'a pas encore abouti. La culture d'anthères (Liu et Chen, 1978; CIAT, 1982) échoue, comme pour les cellules, sur la phase d'organogenèse (formation de cals

et axes racinaires uniquement). D'autres possibilités de générer des haploïdes sont à prospector : culture directe des microspores, gynogenèse, induction de l'haploïdie par fécondation avec du pollen d'une autre espèce ou du pollen irradié).

### Variation somaclonale et génie génétique

Le développement de ces nouvelles approches de sélection est bloqué par les difficultés de régénération de plantes entières de manioc par embryogenèse somatique :

- par la culture *in vitro* d'explants variés, on a montré la capacité des cellules isolées à régénérer des plantes entières, les phénomènes de rajeunissement au cours des microbouturages successifs et même jusqu'à la perte de l'identité cellulaire permettant de l'engager vers des orientations nouvelles (variants résultant de mutation, remaniements chromosomiques, régulation génétique...). Chez le manioc, on pourrait exploiter cette voie avec des pressions comme des stress physiques, des toxines et des anticorps spécifiques...

- l'intérêt des produits d'hybridations interspécifiques a été démontré chez le manioc en particulier. Son approche par l'hybridation somatique ouvrirait l'éventail des possibilités de recombinaison des génomes et des cytoplasmes : elle donne naissance à des plantes transgéniques plus ou moins viables et plus ou moins stables,

- enfin, la transformation végétale par génie génétique a abouti à quelques transferts de gènes bactériens et de protéines de plantes. La transformation peut être directe ou par l'intermédiaire de vecteurs dérivés du plasmide T1 d'*Agrobacterium*. Il y a encore peu de réalisations intéressantes pour l'amélioration des plantes (protéine capsidique du TMV, résistance au glyphosate).

## CONCLUSIONS

Cette revue générale sur la génétique du manioc met en lumière les lacunes et les besoins de recherche dans ce domaine :

- la connaissance du génome du manioc et de la structure des populations du genre *Manihot* est très limitée. Elle peut progresser rapidement avec l'emploi de marqueurs moléculaires variés,

- les ressources génétiques ont un impact primordial pour l'amélioration du manioc. On doit donc encourager les prospections de formes sauvages et de cultivars d'une part, et la circulation du matériel végétal d'autre part. Un pas décisif a été franchi sur ce point avec la constitution de vitrothèques de microplantes saines,

- les méthodologies classiques de sélection végétative et sexuée restent tout à fait opérantes pour le manioc.

Par contre, les méthodologies modernes ne seront applicables au manioc qu'après avoir résolu les points suivants :

- savoir régénérer *in vitro* des plantes transgéniques normales et stables,
- savoir identifier et isoler les gènes à transférer (sondes) applicables aux caractères génétiques simples (résistances),
- connaître le contrôle de l'expression des gènes transférés,
- disposer des équipements et des personnels compétents en biotechnologies végétales et biologie moléculaire.

## BIBLIOGRAPHIE

- BYRNE, D. (1984). *Plant Breeding Reviews* 2, 73-134.
- CIAT (1980) (1982) (1985). *Annual reports*.
- COSTA, I.R.S. & PERIM, S. (1983). *Comunicado Tecnico*, CPAC 31, 1-6.
- COURS, G. (1951). *Mémoires de l'Institut de Madagascar*. série B 3, 203-416.
- DOKU, E.V. (1965). *Ghana Journal of Science* 5, 42-59.
- GALINDO, R.G.A. (1982). *Thesis*, Universidad de Guadalajara, Mexico, 81p.
- HAHN, et al. (1979). *Field Crop Research* 2, 193-226.
- HARLAN, J.R. (1971). *Science* 174, 468-474.
- IBPGR, (1983). Genetic resources of *Manihot*.
- IITA (1982). *Annual report*.
- JENNINGS, D.L. (1976). In *Evolution of crop plants* (N.W. SIMMONDS, ed.), 81-84.
- JENNINGS, D.L. & HERSEY, Ch. (1985). In *Progress in Plant Beeding*. Butterworths, 89-116.
- JONES, W.O. (1959). *Manioc in Africa*. Standford University Press, 315p.
- KARTHA, K.K. & GAMBORG, O.L. (1975). *Phytopathology* 65, 826-828.
- KARTHA, K.K., LEUNG, N.L. & MROGINSKI, L.A. (1982). *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 107, 133-140.
- KENT, R. (1969). *Terre malgache* 5, 177-183.
- LEFEVRE, F. (1987). Poster. *Séminaire sur la Mosaïque Africaine du Manioc et son contrôle*, Yamoussoukro, 4-8 mai 1987.
- LEON, J. (1976). 4th ISTRC (Cali.), 20-36.
- LIU, M.C. & CHEN, W.H. (1978). *Canadian Journal of Botany* 56, 1287-1290.
- MABANZA, J. & JONARD, R. (1984). *Bulletin de la Société Botanique de France* 131, 91-95.
- MAGOON, M.L., KRISHNAN, R. & VIJAYA BAI, K. (1969). *Cytologia* 34, 612-626.
- MARTIN, F.W. (1976). *Plant Breeding Abstracts* 46, 909-916.
- MONTALDO, A. et al. (1982). *Revista de la Facultad de Agronomia* (Venezuela) 143-166.
- NASSAR, N.M.A. (1978). *Economie Botanique* 32, 311-320.
- NASSAR, N.M.A. (1980). *Economie Botanique* 34, 13-15.
- NASSAR, N.M.A. (1984). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 44, 147-152.
- NASSAR, N.M.A. (1986). *Field Crops Research* 13, 177-184.
- ROCA, W.M. (1984). In *Handbook of Plant Cell Culture*, 269-301.
- ROGERS, D.J. & APPAN, S.G. (1973). *Flora Neotropica, Monograph* 13, New York, 272p.
- SHAHIN, E.A. & SHEPARD, J.F. (1980). *Plant Science Letter* 17, 459-465.
- STAMP, J.A. & HENSHAW, G.G. (1982). *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 105, 183-187.
- SYLVESTRE & ARRAUDEAU (1983). *Le manioc*. Maisonneuve et Larose.
- UGENT, D., POZORSKI, S. & POZORSKI, T. *Economie Botanique* 40, 78-102.
- VUILLEUMIER, B.S. (1971). *Science* 173, 771-780.
- ZOUNDJHEKPON, J. (1986). *Thèse 3ème cycle*, Université Nationale de Côte d'Ivoire.