

Le réseau sur la biotechnologie du manioc son histoire, ses objectifs, et ses recherches actuelles

A. M. THRO*, **W. M. ROCA****, **G. HENRY*****

** réseau biotechnologie du manioc, ** Unité de recherche de biotechnologie
*** programme manioc, Cali, (Colombie)*

Le manioc et la biotechnologie

Les différentes réunions internationales sur le manioc ont permis à chacun de prendre conscience de l'importance de cette plante dans les pays tropicaux. Ces racines féculentes produisent plus de calories à l'hectare que toutes autres productions agricoles, à l'exception de la canne à sucre. La supériorité du manioc sur les autres cultures est particulièrement sensible sur les sols acides et dans les environnements agro-écologiques où la culture du riz n'est pas adaptée. Le manioc peut jouer deux rôles majeurs dans l'agriculture tropicale, celui d'une culture de sécurité et celui d'une production de base pour le développement économique des régions pauvres.

Le réseau "biotechnologie du manioc", connu sous l'appellation CBN (Cassava Biotechnology Network) est une réponse apportée par le CIAT à la situation d'il y a une dizaine d'années, lorsque l'importance du manioc était rarement mentionnée au plan international et peu connue en dehors des tropiques.

Des outils biotechnologiques puissants pour la recherche agricole se sont développés rapidement dans le monde, mais principalement dans les pays où le manioc est absent des préoccupations des chercheurs. Aussi, peu de travaux ont-ils porté sur l'application de ces outils au développement du manioc. Pourtant les biotechnologies constituent pour cette plante des voies d'amélioration évidente, qu'il s'agisse des produits traditionnels ou des nouvelles formes d'utilisation pour satisfaire les marchés diversifiés.

CBN a été créée en 1988 pour constituer un forum sur les applications de la biotechnologie pour l'amélioration du manioc et de ses produits et pour encourager la recherche à conduire des études prioritaires dans ce domaine. Depuis cette date, beaucoup de projets de recherche faisant appel à la biotechnologie ont été mis en oeuvre pour le manioc (cf. tableau 1).

Tableau 1

Projets de recherches biotechnologiques du manioc, liste partielle, 1993

RECHERCHE	No. de projets	PAYS ET CENTRES INTERNATIONAUX
Culture de tissu, micro propagation	+++	Barbados, Brésil, Cameroun, Cuba, Chine, Indonésie, Nigeria, Panama, Pérou, Samoa, Venezuela, Zaïre, et autres ; CIAT, IITA
Régénération	9	Chine, France, Pays Bas, Royaume Uni, USA, Zimbabwe ; CIAT, IITA
Transformation génétique	7	Canada, Brésil, Royaume uni, USA ; CIAT, IITA
Carte moléculaire, marqueurs	6	France, Royaume uni, USA ; CIAT, IITA
Résistance au virus	3	Pays Bas, USA, Zimbabwe
Cyanogénèse	7	Danemark, Pays Bas, Thaïlande, USA ; CIAT, IITA
Photosynthèse	2	Australie, USA
Cryopréservation	2	France ; CIAT
Transformation commerciale (produits alimentaires)	+++	Argentine, Brésil, CIAT, Colombie, Congo, France, Ghana, Inde, Nigeria, Afrique du Sud, Tanzanie, Royaume uni, et autres

+++ plusieurs projets

Les objectifs du CBN comprennent :

- l'identification des priorités de recherche
- l'encouragement à conduire ces recherches en collaboration et dans un esprit de complémentarité au travers :
 - de l'éducation de la communauté des chercheurs sur l'importance du manioc et sur le rôle des biotechnologies dans la recherche et le développement
 - de l'organisation d'opportunités de rencontre et de communication entre chercheurs
 - de l'encouragement à échanger librement les informations sur la recherche en biotechnologie du manioc y compris sur les techniques, les matériaux et les résultats.

Les objectifs de recherche pour la biotechnologie du manioc

La biotechnologie demande un investissement important qui s'étale souvent sur le long terme. En conséquence, il est nécessaire d'établir les priorités avec soin. Comme pour toute recherche agronomique, l'objectif de la biotechnologie est de produire une technologie effective, efficiente et appropriable par un nombre d'utilisateurs le plus important possible. Dans le cas du manioc les utilisateurs ciblés sont le petit agriculteur, le transformateur et le consommateur.

La première étape de la recherche en biotechnologie du manioc est commune à toutes opérations de recherche et développement. Il s'agit d'identifier les limites de la production et de l'utilisation pour les groupes intéressés qui dépendent de cette culture pour leur sécurité alimentaire. Il s'agit aussi d'envisager les nouvelles opportunités pour le manioc pour augmenter les revenus ruraux et pour améliorer l'accès des consommateurs urbains à des produits de qualité, à bas prix. Cette démarche, dont le concept nous est familier, est souvent bien difficile à réaliser.

La deuxième étape consiste à mesurer l'importance des apports de la biotechnologie pour réduire une contrainte ou pour saisir une opportunité de la production locale. Pourquoi et où est-ce important ? Le tableau 2 illustre cette étape de la démarche. Il montre par région l'importance relative de certaines contraintes clefs à la production du manioc, comme les maladies virales et les insectes ravageurs, ou encore des contraintes à l'utilisation du manioc comme le caractère toxique des variétés ou les qualités de l'amidon. Ce tableau tente également de situer l'impact des innovations potentielles de la biotechnologie du manioc sur le marketing des produits.

La troisième étape est d'identifier parmi les limites et les opportunités régionales de production, celles pour lesquelles la biotechnologie peut offrir un avantage comparatif par rapport aux autres techniques. Dans cette étape, pour pouvoir développer des innovations appropriées et pratiques, la composante biotechnologique de la stratégie de recherche doit être intégrée aux autres disciplines scientifiques comme l'amélioration des plantes, la défense des cultures, l'agronomie, les sciences de l'alimentation, l'économie, la sociologie, etc.

Plusieurs assemblées (CIAT, 1988 ; IITA, 1989 ; Amsterdam DGIS, 1990 ; Cartagena, 1992 ; CIAT, 1992) et plusieurs études (Panman *et al.*, 1989 ; Henry, 1991) ont appliqué la démarche précédente à la définition des priorités et des stratégies de la recherche en biotechnologie du manioc. Les participants à ces assemblées constituent aujourd'hui un groupe important, avec cependant quelques exceptions. Ainsi, les contacts avec les membres de la CORAF sont-ils peu nombreux. CBN a pris récemment des initiatives pour mieux connaître les travaux de la CORAF et son intérêt à participer au réseau sur la biotechnologie du manioc. Puisse cette présentation fournir à ses membres des informations sur le réseau et ses priorités de recherche et les inciter à communiquer leurs travaux sur la biotechnologie du manioc.

Tableau 2

Importance relative des difficultés et opportunités du manioc, pour lesquelles la biotechnologie peut avoir un avantage relatif de recherche, par région, et impact de la biotechnologie sur les innovations

Recherche	Importance par région			Impact des innovations	
	Afrique	Amérique Latine	Asie	sur le Rendement	sur le marché
Maladies virales	+++	+++	+	+++	+
Insectes pestes	+++	+++	+	+++	+
Cyanure toxique	+++	+	++	0	++
Qualité d'amidon	++	++	+++	0	+++
Détérioration post-récolte des racines	++	+++	+++	0	+++

+++ haute ; ++ moyenne ; + basse ; 0 pas de changement

Source : Roca, W. M., G. Henry, F. Angel, and R. Sarria, 1992

Biotechnology research applied to cassava improvement at the International Center of Tropical Agriculture (CIAT). AgBiotech News and Info. 4:303N-308N.

Les priorités de recherches, présentées dans le tableau 3, peuvent être divisées en applications et outils biotechnologiques. Les applications correspondent aux produits ultimes de la recherche biotechnologique sur le manioc. Elles comprennent les travaux portant sur la qualité du manioc et sur l'élaboration de produits nouveaux ainsi que ceux portant sur l'efficacité de la production, l'IPM, le management optimum de la cyanogénèse du manioc et autres...

Les outils de la biotechnologie sont ensuite énumérés et correspondent aux moyens nécessaires pour faire aboutir les recherches. Les outils biotechnologiques pour le manioc comprennent la caractérisation du génome, la carte moléculaire, la transformation génétique et la régénération des plantes transformées. Quand les protocoles de transformation sont prêts, la préparation des gènes utiles et des promoteurs de gènes peut être assurée. Un autre groupe d'outils permet alors de conserver et d'utiliser le germoplasme.

L'établissement des priorités pour la biotechnologie du manioc constitue, comme pour toutes autres recherches, un processus dynamique et continu. Le CBN se propose de mettre à jour, tous les deux ans, l'état des avancés scientifiques, des évolutions économiques et des nouvelles voies de la recherche. Par exemple, les besoins et les attentes des agriculteurs, des transformateurs et des consommateurs seront incorporés au prochain état.

Tableau 3
Priorités de recherche biotechnologiques du manioc

Applications biotechnologique pour réaliser des opportunités pour le manioc.

Quantité et qualité de l'amidon pour utilisations diverses.
D'autres procédés pour produits améliorés et nouveaux
Efficience de cycle de nutrition des plantes
Productivité en zones agroécologiques sous optimales (photosynthèse sous stress, interactions mycorrhizales, engrais bios)

Applications biotechnologiques : pour résoudre les problèmes du manioc

Management intégré de pestes
Biochimie cyanogénique pour production maximum de manioc et utilisation
Mise en valeur de traitement pour la réduction de cyanogène
Management de déchets
Réduction de la détérioration après récolte
Développement de vraies graines pour la production de manioc

Outils biotechnologiques : pour le manioc génétiquement amélioré

Caractérisation de génomes Manihot
Carte moléculaire du manioc
Clonage de gènes utilisés et de gènes promoteurs
Régénération et transformation génétique
Régulation de biologie reproductive

Outils biotechnologiques : pour conserver et échanger la diversité génétique du Manihot

Méthodes de diagnostic pour le transfert de germoplasme propre
Cryopréservation pour la conservation à long terme
Culture de tissu pour la conservation et micropropagation

Etablissement de priorités pour la recherche biotechnologique du manioc

Etudes socio-économiques :
Perspective des petits producteurs et de traiteurs
Données sur les problèmes et opportunités du manioc
Etudes interdisciplinaires pour éclaircir les questions complexes du manioc
Cyanogénésis
Détérioration du manioc après récolte
De vraies graines plutôt que de la propagation végétative.

Les recherches et progrès actuels sur la biotechnologie du manioc

Les travaux sur la biotechnologie du manioc, en particulier ceux sur la culture de tissu et la conservation *in vitro* avaient commencé au CIAT dès 1978. Cependant, l'essor des recherches en biotechnologie sur ce produit n'a réellement commencé qu'en 1988, à la création du CBN.

Les progrès les plus importants ont concerné le développement des outils biotechnologiques pour le manioc. Ces développements indispensables à la recherche appliquée ont constitué la priorité initiale.

Les outils biotechnologiques les plus développés à présent concernent la conservation de la diversité génétique du manioc et des espèces sauvages. La micropropagation et la conservation *in vitro* sont utilisées dans de nombreux pays tropicaux parmi lesquels il convient de citer les Barbades, le Brésil, le Cameroun, la Chine, l'Indonésie, le Niger, le Panama, le Pérou, les Iles Samoa, le Venezuela, le Zaïre, ... Les indicateurs moléculaires sont utilisés pour identifier les doubles dans les collections de germoplasme. Des méthodes de cryopréservation, pour assurer, à peu de frais, la conservation de la diversité génétique du manioc ont été développées au CIAT à Cali et à l'ORSTOM à Montpellier. Elles sont à présent prêtes pour une application réelle sur le long terme.

Dans les sujets de recherche sur le génome du *Manihot*, les études ont démontré qu'il y a compatibilité chromosomale entre les espèces alors que les polymorphismes moléculaires existent à l'intérieur et entre les espèces. Initialement, la recherche moléculaire de phylogénie s'est concentrée au Nord-Ouest de l'Amérique du Sud qui peut être considéré comme le berceau originel du manioc avec comme parent sauvage *M. aesculifolia*. Ces études se sont à présent étendues pour tenir compte de l'importance du centre du Brésil dans la diversité du *Manihot*. Les chercheurs qui ont utilisé les indicateurs isozymes et DNA aussi bien au CIAT qu'à l'ORSTOM ou aux USA ont démontré que le germoplasme du manioc d'Amérique du Sud et Centrale, auquel il convient d'ajouter celui d'Afrique, contient au niveau moléculaire une diversité génétique considérable.

La carte moléculaire du manioc pour l'identification des gènes et pour leur amélioration est en cours de construction. Elle se fait au travers d'agréments, d'échanges et de collaborations. Des bibliothèques génomiques et une population ont été produites. Le plan de la carte moléculaire est commencé. Pour en accélérer sa réalisation, plusieurs types d'indicateurs moléculaires sont utilisés : RFLPs obtenus via DNA génomique complet ; cDNA (qui ne contient que les séquences transcrites) et RAPD primers. La structure de la carte et la population même seront accessibles aux chercheurs et aux programmes d'amélioration du manioc. Les progrès enregistrés vers la transformation génétique du manioc sont substantiels. Aujourd'hui, la régénération a été accomplie grâce à l'embryogénèse somatique pour de nombreux

génotypes. La limite à ce travail a été la régénération de plantules uniformément modifiés à partir d'une seule cellule transformée. Aucune régénération à partir de callus ou de protoplastes n'a été réalisée. Les études sur la culture en suspension de l'embryon sont encourageantes et la possibilité d'utiliser d'autres systèmes de régénération à partir d'une cellule unique devrait être recherchée.

La possibilité de transformer des cellules de manioc a été prouvée, et les embryons chimériques somatiques sont obtenus très régulièrement. Si le financement pour la recherche actuelle de la transformation génétique du manioc est maintenu, des plantes transgéniques devraient voir le jour dans un temps raisonnable.

La résistance aux virus, au travers de la transformation génétique, en utilisant la méthode de la protéine avec revêtement viral est effective pour le virus commun de la mosaïque du manioc (CCMV). Les essais ont porté sur *Nicotiana benthamii*, une espèce de tabac sensible aux virus du manioc. L'efficacité de la transformation contre le virus africain de la mosaïque du manioc (ACMV) reste encore à démontrer. Les deux gènes modifiés par revêtement de protéine seront testés sur le manioc dès que la transformation sera disponible.

Dans le domaine important de la qualité du manioc des progrès significatifs ont été réalisés. Ils concernent la compréhension biochimique de la cyanogénèse du manioc. Le gène a été cloné avec la linamarase, une enzyme clef dans la voie de cyanogénèse. De nouvelles méthodes pour la détermination des composés cyanés du manioc ont été développés. Elles sont plus rapides, moins coûteuses et moins toxiques que les méthodes antérieures. La compréhension du rôle des composés cyanés au cours de la production du manioc et lors de sa transformation a augmenté. Il y a maintenant plus d'informations sur la toxicité des composés cyanés. La mise en évidence de l'association de différents glucosides cyanogénétiques permet d'analyser leurs impacts respectifs sur la résistance aux insectes de la plante et sur la qualité des produits consommés.

Un projet majeur, financé par l'Union européenne relie plusieurs institutions de recherche latino-américaine et européennes pour développer des recherches sur la transformation du manioc. Dans ce projet, le CIAT, le CIRAD, l'ORSTOM, le NRI travaillent en collaboration avec l'Université del Valle en Colombie, l'Université de l'Etat de Sao Paulo au Brésil et l'Université de Buenos Aires en Argentine. Cinq objectifs ont été définies :

- améliorer la qualité de la farine et de l'amidon de manioc et leur traitements respectifs
- étudier les voies d'utilisation des déchets liquides et solides de la transformation du manioc (biogaz, compost, alcool, aliment pour animaux, production d'acide lactique)

- améliorer les propriétés fonctionnelles des farines et amidons de manioc
- rechercher par bioconversion des farines et des amidons des formulations d'aliments nouveaux
- étudier le marché potentiel des nouveaux dérivés du manioc.

Un autre projet, multidisciplinaire, a été développé avec le concours de la FAO. Il concerne l'analyse des limites de la production et du marketing des produits face à la rapide détérioration après récolte des racines de manioc. Ce problème qui jusqu'à présent n'était pas pris en compte dans les thèmes de recherche va permettre d'intégrer la biotechnologie dans la limitation des pertes après-récolte, grâce aux avancées de la génétique moléculaire.

Les perspectives pour la biotechnologie du manioc

Les expériences accumulées sur d'autres plantes laissent espérer qu'un protocole pour la transformation génétique du manioc est proche, surtout si on peut développer de meilleurs systèmes de régénération.

L'assemblage de la structure de la carte moléculaire qui doit être réalisé pour pouvoir suivre la localisation des gènes majeurs devrait être achevé en 1994. La carte et la population utilisées seront disponibles et accessibles aux chercheurs qui pourront l'enrichir et y développer des recherches génétiques complémentaires.

La prochaine étape de la recherche sur la biotechnologie du manioc comprendra l'identification et le clonage de gènes utiles pour des applications variées concernant par exemple l'amélioration de la qualité des amidons, l'élaboration de produits nouveaux ou le management des déchets de la transformation.

Des règlements nationaux pour autoriser la diffusion dans l'environnement des plantes transformées, y compris le manioc, deviendront une étape critique pour l'avenir de la biotechnologie.

Les applications visant à la manipulation de la physiologie de la plante et à la compréhension des interactions plantes-environnement, comme celles liées à la photosynthèse et au cycle de nutrition des plantes, sont encore bien éloignées mais doivent être envisagées.

A plus court terme, il apparaît très important que les futures orientations des recherches sur la biotechnologie du manioc prennent en compte les études socio-économique pour améliorer les perspectives de développement du petit producteur, et du transformateur de manioc face aux marchés et aux économies mondiales.

Bibliographie

CIAT, 1989 - *Report on the founding workshop for the Advanced Cassava Research Network*. Held at CIAT, Sept. 6-9, 1988. Cali, Colombia.

DGIS, 1991 - «Cassava and biotechnology». Proceedings of a workshop held in Amsterdam, 21-23 March, 1990. Directorate General for International Cooperation, The Hague.

IITA, 1988 - «The use of biotechnology for the improvement of cassava, yams, and plantain in Africa.» Contributions from a meeting of African Research Institutions. Ibadan, 8-9 August, 1988. IITA Meeting Reports Series 1988/2.

HENRY (G.), 1991 - «Assessment of socio-economic constraints and benefits to small-scale farmers from cassava biotechnology research.» In: CIAT, 1991. *Proposal for DGIS funding of coordination and activities of the Cassava Biotechnology Network (CBN)*. June 1991.

PANMAN (J.), SCHEEPENS (A. J.), DE BRUIJN (G. H.), FRESCO (L. O.), 1989 - *Cassava and Biotechnology: Production constraints and potential solutions*. Literature review carried out at the request of the Netherlands Directorate General for International Cooperation. Dept. of Tropical Crop Science, Agricultural University, Wageningen.

ROCA (W. M.), HENRY (G.), ANGEL (F.), SARRIA (R.), 1992 - Biotechnology research applied to cassava improvement at the International Center of Tropical Agriculture (CIAT). *Ag Biotech News and Info*. 4 : 303N-308N.