

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION U.R. BASES BIOLOGIQUES DE L'AMELIORATION DES PLANTES TROPICALES

RESSOURCES GENETIQUES ET AMELIORATION DU MANIOC, MANIHOT ESCULENTA CRANTZ, EN AFRIQUE

François Lefèvre



Editions de l'ORSTOM

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

Collection:

Travaux et documents microédités PARIS 1989

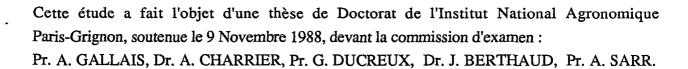
ISBN -

2-7099-0968-5



- ORSTOM
- « La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article
- « 41, d'une part, « que les «copies ou reproductions strictement réservées à « l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective» et, d'autre
- « part, que les analystes et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illus
- « tration, «toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans
- « le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite»
- « (alinéa 1er de l'article 40).
 - « Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit
- « constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivant:
- « du Code Pénal».





Institut National Agronomique Paris-Grignon

THESE

Présentée par : François LEFEVRE

pour l'obtention du titre de Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

RESSOURCES GENETIQUES ET AMELIORATION DU MANIOC, Manihot esculenta Crantz, EN AFRIQUE

Soutenue le 9 Novembre 1988 devant la commission d'examen composée de:

M. A. Gallais Président

M. A. Charrier

M. G. Ducreux

M. J. Berthaud

M. A. Sarr

REMERCIEMENTS

Les recherches présentées dans cette thèse ont été effectuées au Laboratoire de Ressources Génétiques et Amélioration des Plantes Tropicales du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire).

Monsieur CHARRIER, Responsable de l'Unité de Recherche Bases Biologiques de l'Amélioration des Plantes Tropicales à l'ORSTOM, a élaboré le programme d'étude de la diversité des maniocs en Afrique. Il m'a proposé de participer à cette recherche, dont il a dirigé les travaux. Ses nombreux conseils m'ont été précieux, tant pour la réalisation des expériences que pour la rédaction de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Monsieur GALLAIS, Professeur à la Chaire de Génétique et Amélioration des Plantes de l'INAPG, m'a fait découvrir et apprécier cette discipline. Malgré l'éloignement, il a suivi l'évolution de ces travaux et m'a accordé des moments de discussion particulièrement enrichissants. Je tiens à lui adresser mes plus vifs remerciements.

Je tiens également à remercier Messieurs DUCREUX et BERTHAUD, qui ont bien voulu être les rapporteurs de cette thèse, ainsi que Monsieur SARR, qui a accepté de siéger dans le jury.

Je remercie tous les chercheurs du Laboratoire de Génétique d'Adiopodoumé pour leur accueil chaleureux et leur disponibilité: Messieurs ASSIENAN, BEZANCON, DE KOCHKO, GHESQUIERE, HAMON, LE PIERRES, NOIROT et PHAM.

Madame Jeanne ZOUNDJIHEKPON a engagé l'étude de la diversité du manioc et a contribué à l'enrichissement de la collection d'Adiopodoumé. Qu'elle trouve ici toute ma reconnaissance pour m'avoir fait partager son expérience.

Je remercie Messieurs FAUQUET, FARGETTE et FISHPOOL, chercheurs au Laboratoire de Phytovirologie, ainsi que Messieurs HAINAUX et RAFAILLAC, chercheurs au Laboratoire d'Agronomie, qui m'ont fait part de leur connaissance du manioc dans leurs domaines respectifs.

Ce travail n'aurait pu être effectué dans d'aussi bonnes conditions sans l'appui technique de Messieurs HOUNTANGNI, BOUKARY, KABORE, BOKA et GUELA BLEDY du Laboratoire de Génétique, ainsi que des observateurs du Laboratoire de Phytovirologie. Je les remercie de leur collaboration.

J'exprime toute ma gratitude à Messieurs NEDELEC, DIE, PASAMBA et KOUAKOU dont les conseils ont facilité la mise en place des essais agronomiques et des collections.

Que tous ceux qui m'ont encouragé et soutenu, par leur aide ou leur affection, reçoivent ici l'expression de ma reconnaissance.

SUMMARY

Genetic resources and varietal improvement of cassava, Manihot esculenta Crantz, in Africa.

The increasing pressure of diseases on cassava in Africa, where traditionnally it has been clonally propagated, implies a better understanding of the genetic pool on the continent.

Genetic variability of *Manihot esculenta* has been evaluated over a collection of 365 samples of various origins. The analysis of isozymic polymorphism, based on 20 presumed loci, shows a highly heterozygous structure of the cultivars. The multivariate statistical analysis of the botanical and biochemical data indicates the presence of several groups of related clones; thus, improved varieties resistant to african mosaïc and bacterial blight diseases appear to be little diversified.

For the wild species *M.glaziovii*, isozymic diversity, studied on a collection of 24 samples, most of them from the Ivory Coast, appears to be higher than for *M.esculenta*, and it shows a scattered geographical distribution. Those two species have closely related genomic structures. The variability of their spontaneous interspecific hybrids, on the quantitative or qualitative morphological level as well as on the biochemical level, shows the importance of the gene flow between *M.esculenta* and *M.glaziovii*. Following through with subsequent progeny, the main features of the reproductive isolation can be defined. Spontaneous forms contain various types of resistance to african cassava mosaïc disease.

In view of the evolutionnary process to which the genetic resources have been submitted, the main options of conservation and exploitation in a cassava breeding program are discussed.

Key-words:

Cassava - Manihot esculenta - Manihot glaziovii - Africa - Genetic resources - Isozymes - Interspecific hybridization - African cassava mosaïc disease.

RESUME

La culture du manioc, traditionnellement multiplié par voie végétative, est soumise en Afrique à un fort accroissement de la pression parasitaire. Son amélioration demande une meilleure connaissance des ressources génétiques disponibles.

La variabilité génétique du manioc *Manihot esculenta* est évaluée sur une collection de 365 échantillons d'origines diverses. L'analyse du polymorphisme isozymique, sur 20 loci présumés, indique une structure fortement hétérozygote des cultivars. Le traitement statistique multivarié des données botaniques et enzymatiques révèle l'existence de groupes de clones apparentés; en particulier, les variétés sélectionnées pour la résistance à la mosaïque et à la bactériose apparaissent peu diversifiées.

La diversité isozymique de l'espèce sauvage *M.glaziovii*, étudiée sur une collection de 24 échantillons prospectés essentiellement en Côte d'Ivoire, apparaît plus importante que celle de *M.esculenta*, mais avec une répartition géographique non uniforme. Les deux espèces présentent des structures génomiques voisines. La variabilité des formes hybrides interspécifiques spontanées, tant sur le plan morphologique qualitatif ou quantitatif que sur le plan biochimique, atteste de l'importance des flux géniques entre *M.esculenta* et *M.glaziovii*. Le suivi de descendances permet de préciser les principaux aspects de la barrière reproductive. Les formes spontanées renferment différents types de résistance à la mosaïque africaine du manioc.

A la suite de l'interprétation des facteurs évolutifs responsables de l'organisation de la diversité, la discussion est orientée vers la conservation des ressources génétiques du manioc et leur exploitation dans un schéma d'amélioration.

Mots-clés:

Manioc - Manihot esculenta - Manihot glaziovii - Afrique - Ressources génétiques - Isozymes - Hybridation interspécifique - Mosaïque africaine du manioc.

SOMMAIRE

	pages
Remerciements	3
Summary	5
Sommaire	7
Quelques définitions et abrévations	11
INTRODUCTION	13
CHAPITRE I : ORIGINE DE LA DIVERSITE GENETIQUE DU MANIOC	19
1°) Le complexe d'espèces du genre Manihot	21
1.1. La diversité des espèces du genre Manihot	21
1.2. Les structures génomiques	23
1.3. L'isolement reproductif	23
2°) Domestication et dispersion du manioc	25
2.1. Domestication de M. esculenta	25
2.2. Diffusion intercontinentale	27
3°) Les autres espèces de Manihot en Afrique	28
3.1. Leur introduction	28
3.2. Leur impact en sélection	29
CHAPITRE II : DIVERSITE GENETIQUE AU SEIN D'UNE COLLECTION	
DE CULTIVARS DE Manihot esculenta	31
A. Matériel et méthodes	33
1°) Le matériel végétal	33
1.1. La collection de cultivars M. esculenta	33
1.2. Les descendances issues de fécondations contrôlées	33
2°) Obtention des descendances	35
2.1. La technique de fécondation	35
2.2. La germination des graines	35
3°) Les descripteurs morpho-physiologiques	37
3.1. Description botanique	37
3.2. Evaluation agronomique	37
3.2.1. Productivité	37
3.2.2. Comportement phytosanitaire	39
3.2.3. Teneur en acide cyanhydrique	39

4°) Les marqueurs enzymatiques	41
4.1. La technique d'électrophorèse	41
4.2. Les systèmes enzymatiques révélés	43
5°) Les méthodes statistiques	43
B. Description de la collection	45
1°) Identification botanique et enzymatique des clones	45
2°) Evaluation agronomique des clones	47
2.1. Evolution de la productivité au cours des cycles de bouturage	47
2.2. Diversité de la production	51
C. Les bases génétiques de la diversité	53
1°) Hérédité de 2 caractères morphologiques	53
2°) Hérédité des marqueurs enzymatiques	53
3°) Hétérozygotte observée	55
3.1. Le taux d'hétérozygotie	55
3.2. La part d'hétérozygotie fixée	55
4°) Répartition géographique des allèles enzymatiques	56
D. Structuration de la diversité génétique: analyse des combinaisons	57
1°) La démarche	57
2°) Approche morphologique	59
2.1. Classification botanique des variétés	59
2.2. Evaluation agronomique des groupes morphologiques	61
3°) Approche biochimique	61
3.1. Les étapes de l'analyse	61
3.2. Le polymorphisme d'allèles communs	63
3.3. Analyse globale du polymorphisme enzymatique	63
3.4. Evaluation agronomique des groupes enzymatiques	66
4°) Vision synthétique	67
4.1. Divergences et convergences des deux approches	67
4.2. Organisation de la diversité au sein de la collection de maniocs africains	70
E. Principaux facteurs limitant le brassage génétique	71
1°) La sélection dirigée	71
2°) Variabilité du taux de réussite des croisements intraspécifiques	71
Conclusion	75

CHAPITRE III: Manihot glaziovii COMME SOURCE DE VARIABILITE POUR	
L'AMELIORATION DU MANIOC	79
; 	0.1
A. Matériel et méthodes	81
1°) Le matériel végétal	81
1.1. La collecte de M. glaziovii en Côte d'Ivoire	81
1.1.1. Déroulement des prospections	81
1.1.2. Mise en collection	81
1.2. Les descendances	83
1.2.1. Les descendances issues de fécondations contrôlées	83
1.2.2. Les descendances en fécondation libre	83
2°) Méthodes d'étude des relations entre M. esculenta et M. glaziovii	85
2.1. Les descripteurs morphologiques	85
2.2. Les marqueurs enzymatiques	85
2.3. Les observations cytologiques	87
3°) Mise en place d'un essai d'évaluation agronomique des formes introgressives	87
3.1. Objectifs	87
3.2. Protocole expérimental	89
3.3. Les caractères observés	89
3.3.1. Le syndrôme de domestication	89
3.3.2. Le comportement phytosanitaire	89
3.3.3. Les paramètres de vigueur et de croissance	90
3.3.4. Les critères de qualité des racines	91
4°) Les méthodes statistiques	91
B. Mise en évidence et caractérisation des flux géniques entre M.esculenta et M.glaziovii	93
1°) Diversité des formes sauvages en Côte d'Ivoire	93
1.1. Les formes sauvages rencontrées	93
1.1.1. Existence d'hybrides interspécifiques spontanés	93
1.1.2. Les écotypes	93
1.2. Diversité morpho-physiologique	95
1.2.1. Polymorphisme comparé de M. esculenta et M. glaziovii	95
1.2.2. Etude de la forme du limbe des feuilles	95
1.3. Diversité isozymique	99
1.3.1. Polymorphisme comparé de M. esculenta et M. glaziovii	99
1.3.2. Organisation de la diversité chez M.glaziovii s.s.	10
1.3.3. Structures génotypiques des hybrides spontanés	101

2°) Les possibilités de transferts géniques	103
2.1. Obtention d'hybrides interspécifiques	103
2.1.1. Obtention d'hybrides F1	103
2.1.2. Croisements entre formes hybrides spontanées	103
2.1.3. Structure génotypique des F1	105
2.2. Fertilité pollinique des hybrides interspécifiques	105
2.3 Analyse de ségrégations "F2"	105
C. Evaluation agronomique des formes introgressives	109
1°) Les caractères de domestication	109
1.1. Aptitude au bouturage	109
1.2. Port	109
1.3. Aptitude à la tubérisation	111
1.4. Les niveaux d'introgression	113
2°) Comportement phytosanitaire	115
2.1. Résistance à la mosaïque africaine du manioc	115
2.1.1. Résistance au développement des symptômes	115
2.1.2. Résistance au vecteur	117
2.2. Résistance à la bactériose vasculaire et à la cochenille farineuse	121
3°) Vigueur et croissance	121
4°) Valeur qualitative des racines	123
4.1. Teneur en amidon	123
4.2. Teneur en acide cyanhydrique	127
Conclusion	128
DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE	131
Discussion	133
1°) Les voies d'approche de la diversité génétique	133
2°) Relations phylogénétiques entre les espèces du genre Manihot	135
3°) Diversification du manioc en Afrique	136
4°) Gestion et exploitation des ressources génétiques africaines	139
4.1. Collecte et conservation des ressources génétiques	139
4.2. Conséquences pour l'amélioration du manioc	140
Conclusion générale	143
Références bibliographiques	145
Annexes	155

OUELOUES DEFINITIONS ET ABREVIATIONS

ECHANTILLON: "unité de collection ayant son propre numéro d'identification" (ici, chaque échantillon sera représenté par plusieurs pieds d'un même clone)

CLONE: bien que la définition rigoureuse soit: "ensemble de la descendance par multiplication végétative d'un même zygote", on conservera volontairement le sens généralement donné dans les études concernant le manioc: "ensemble de la descendance par multiplication végétative d'une même plante" (la mutation somatique est à l'origine d'une variation intraclonale qui peut, dans certains cas, s'exprimer sur le phénotype)

CULTIVAR: " ensemble d'individus ayant des caractéristiques agro-technologiques identiques, et non différenciés dans la nomenclature traditionnelle"

(un cultivar peut être constitué de un ou plusieurs clones)

VARIETE: "population à base génétique très étroite, et de caractéristiques agro-technologiques bien définies, reproductible suivant un schéma de maintien défini"

(chez le manioc, les variétés sont généralement des clones)

IDESSA: Institut des Savanes, Bouaké, Côte d'Ivoire

HTA: International Institute for Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria

KARI: Kenyan Agricultural Research Institute, Nairobi, Kenya

ORSTOM: Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération,
Paris, France

·	,		
•	,	;	

INTRODUCTION

	VALEUR MINIMALE	VALEUR MAXIMALE
Latitude	30° Nord	30° Sud
Pluviométrie annuelle	500 mm	8000 mm
Durée de la saison sèche	0 mois	8 mois
Température moyenne annuelle	8° C	33° C
Altitude	Om	2000 m
pH du sol	3,0	9,5

Tableau 1: Conditions écologiques extrèmes de la zone de culture du manioc. (d'après CIAT, 1981; LOZANO et al., 1980; SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983)

,	TUBERCULE ECORCE	FEUILLE
Glucides	91	41
Lipides	0,5	6
Protides	2	2.5
Fibres	4	20
Cendres	2,5	8

Tableau 2: Composition des parties consommées de la plante de manioc, en % du poids sec. (d'après SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983)

	AFRIQU	E	ASIE		AMERIQUE [DU SUD	MONDE
		%		%		%	
SURFACE (1000 ha)	7482	53	4171	29	2331	16	14151
PRODUCTION (1000 T)	51002	40	50000	39	26861	21	129020
RENDEMENT (T: / ha)	6,82		11,99		11,62		9,12

Tableau 3: Production mondiale de manioc, statistiques pour 1984. (d'après FAO, 1985)

Le manioc, Manihot esculenta Crantz, Dicotylédone de la famille des Euphorbiacées, est un arbuste de 1 à 5 mètres de hauteur, cultivé en région tropicale pour ses racines tubérisées. Son aire de culture couvre des zones écologiques diverses (Tableau 1). La racine est pauvre en protéines, mais présente un amidon d'une excellente digestibilité (SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983); les feuilles, également consommées, constituent un complément azoté important (Tableau 2). Le manioc est une plante cyanogénétique (DE BRUIJN, 1971), on distingue classiquement les variétés "douces" des variétés "amères", en liaison avec leur teneur en acide cyanhydrique (HCN). Les variétés à forte teneur doivent être détoxifiées avant consommation (les techniques de transformation sont basées sur le séchage, le rouissage, ou le râpage des racines).

Quatrième source d'hydrates de carbone après le riz, la canne à sucre et le maïs, le manioc est consommé par plus de 450 millions de personnes (COCK, 1982). Par ailleurs, le cinquième de la production mondiale est utilisé dans l'alimentation animale: outre l'utilisation traditionnelle en fourrage, le manioc tend à se substituer aux céréales dans la fabrication des aliments composés, principalement en Europe (SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983). Le reste de la production est utilisé dans les différentes industries de l'amidon: alimentaires, textiles, biotransformations, etc... Actuellement l'Afrique est le premier continent producteur, devant l'Asie et l'Amérique du Sud (Tableau 3).

Les plants sont généralement multipliés par voie végétative, par bouturage d'axes caulinaires. Les boutures sont totalement ou partiellement enfouies dans le sol; chaque racine est susceptible d'accumuler de l'amidon, qu'elle soit issue d'un nœud ou du cal cicatriciel. Les tubercules sont récoltés après 6 à 30 mois, suivant les variétés et suivant les besoins (JONES, 1959). Le rendement moyen mondial est d'environ 9 t/ha, mais on obtient couramment plus de 60 t/ha en station (SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983). Le rendement moyen en Afrique représente à peine plus de la moitié des rendements américains et asiatiques (Tableau 3); ce décalage est lié au développement récent d'une forte pression parasitaire. On distingue principalement:

- une virose, la mosaïque africaine du manioc; apparue il y a une centaine d'années (BECK, 1982), elle est maintenant présente sur tout le continent et peut provoquer des pertes de rendement allant de 20% à 95% (JENNINGS, 1972);
- une bactériose, due à *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, introduite d'Amérique du Sud vers 1972; elle couvre également toute la zone de culture du manioc, et peut conduire à une baisse de production de 18% à 92% (UMEMURA & KAWANO, 1983);
- des insectes déprédateurs tels que la cochenille farineuse, *Phenacoccus manihoti*, et l'acarien vert, *Mononychellus tanajoa*.

Généralement, la recherche de clones intéressants reste basée sur une simple sélection au sein du pool des cultivars traditionnels. Les programmes d'amélioration génétique sont récents et peu nombreux, ils ont quatre objectifs principaux:

- accroître les rendements, soit en sélectionnant sur des critères physiologiques qui déterminent la productivité des clones (COCK *et al.*, 1979), soit en recherchant une forte réponse à la fertilisation (MAGOON, 1972);
- obtenir des résistances aux principales maladies et aux déprédateurs (HAHN et al., 1980a, 1980b, 1980c);
- adapter les variétés à de nouvelles conditions culturales, en sélectionnant par exemple sur la précocité (MAGOON, 1972), ou sur la tolérance à certains types de sols (LOZANO et al., 1980);
- améliorer la qualité des tubercules: teneur en amidon, toxicité cyanhydrique, aptitude au stockage post récolte; ou celle des feuilles: teneur en protéines (SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983; HAHN *et al.*, 1975).

Le genre Manihot Mill. est constitué d'une centaine d'espèces, réparties en différents groupes géographiques en Amérique du Sud et en Amérique Centrale. La plupart sont des espèces colonisatrices de milieux ouverts (ROGERS & APPAN, 1973). D'après les données archéologiques, le manioc aurait été domestiqué en plusieurs points du continent, les systèmes de culture traditionnels (parcelles polyclonales isolées) ayant par la suite favorisé l'éclosion d'un grand nombre de cultivars (HERSHEY, 1984). Les études menées au CIAT, en Colombie, montrent que chaque cultivar est particulièrement adapté à certaines conditions écologiques, édapho-climatiques et parasitaires, et à des pratiques culturales bien précises (HERSHEY, 1987): on observe ainsi des variations de la durée du cycle, de la teneur en acide cyanhydrique (les cultivars amers étant moins fréquemment dévastés par les rongeurs), ou du niveau de ramification (en liaison avec les risques d'enherbement et les densités de plantations). Alors que la culture du manioc a été introduite en Afrique depuis seulement quatre siècles, COURS (1951), BECK (1982), et ZOUNDJIHEKPON (1986) ont recensé de nombreux cultivars sur ce continent. Grâce à l'allogamie de M. esculenta (KAWANO et al., 1978), cette diversité peut être aisément exploitée dans un programme de création variétale.

Compte tenu de l'urgence de la situation africaine, on s'oriente également vers des voies d'amélioration dites "non conventionnelles", en particulier l'exploitation des espèces sauvages. Leur introduction en Afrique date du début du siècle. Suivant la classification de HAWKES (1977), le manioc se situe parmi les plantes pour lesquelles les transferts géniques sont facilement réalisables: cas où les espèces sauvages et cultivées sont sympatriques, avec des introgressions spontanées plus ou moins fréquentes. En outre, la possibilité de clonage permet d'envisager simplement une multiplication rapide et conforme de tout génotype introgressé. Jusqu'à présent,

des résistances stables à la mosaïque africaine et à la bactériose vasculaire n'ont été obtenues qu'après hybridation avec *Manihot glaziovii* Muell. Arg.. Seuls quelques hybrides interspécifiques, obtenus dans les années 1930 en Afrique de l'Est, sont à l'origine de la plupart des variétés résistantes diffusées sur le continent (HAHN & THEBERGE, 1987), lesquelles ne répondent pas toujours aux demandes des agriculteurs. Cette base génétique pourrait être élargie à partir d'autres échantillons de *M. glaziovii*, espèce autrefois exploitée pour son latex, et largement répandue en Afrique.

Que ce soit pour la gestion des collections vivantes, ou pour l'analyse de leur diversité, le problème d'identification du matériel végétal est rendu particulièrement délicat par la coexistence de la reproduction sexuée et de la multiplication par voie végétative (afin de clarifier l'exposé, le sens des termes "échantillon", "clone", "cultivar", et "variété" est précisé en avant-propos). Chez le manioc, on dispose actuellement de deux types d'identificateurs: des caractères morphologiques et des marqueurs biochimiques. La variabilité morphologique a été décrite en détail à Madagascar, où COURS (1951) a identifié 226 clones sur la base de 30 descripteurs, et en Amérique, où ROGERS & FLEMING (1973) ont classé 230 cultivars en 2 sections et 19 groupes d'après 15 caractères. L'utilisation de la technique d'électrophorèse d'enzymes chez M. esculenta est rapportée par ZOUNDJIHEKPON & TOURE (1983), le CIAT (1985), RAMIREZ et al. (1987). La première description de collection d'après ces marqueurs biochimiques est due à ZOUNDJIHEKPON (1986), qui, en Côte d'Ivoire, classe 418 cultivars en 8 groupes d'après 4 systèmes enzymatiques, 9 descripteurs botaniques, et 9 caractères quantitatifs: cette analyse de la diversité intraspécifique met en évidence une divergence entre l'approche morphologique classique et l'approche biochimique. En ce qui concerne l'étude des relations entre espèces, d'autres travaux ont montré la complémentarité des deux approches, que ce soit chez les animaux (TURNER, 1974; LESSIOS, 1981) ou chez les végétaux (DAMERVAL, 1983).

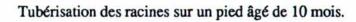
Dans l'optique d'une amélioration variétale basée sur du matériel africain, le présent travail a deux objectifs:

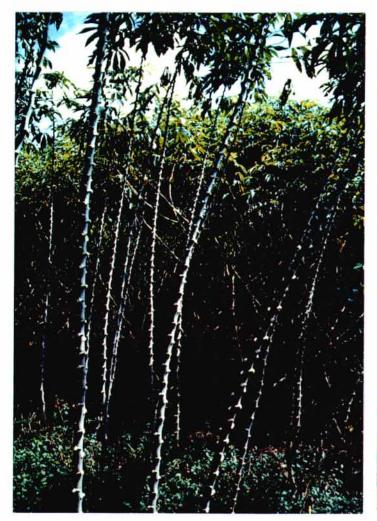
- approfondir l'étude de la diversité du manioc cultivé;
- préciser les potentialités de l'espèce sauvage M. glaziovii comme source de variabilité.

Le premier chapitre dressera le bilan des connaissances sur l'origine de la diversité génétique du manioc. Puis, dans un second chapitre, on décrira l'organisation de la diversité au sein d'une collection de cultivars de M. esculenta: l'étude entreprise par ZOUNDJIHEKPON (1986) sera étendue à de nouveaux marqueurs électrophorétiques; en faisant appel aux méthodes statistiques d'analyse multivariée, on confrontera les informations fournies par les approches morphologiques et biochimiques afin de dresser une image synthétique de la variabilité. Le troisième chapitre sera consacré à l'étude des formes sauvages de Manihot collectées en Côte

d'Ivoire: leur diversité sera décrite suivant les méthodes précédentes; l'obtention de descendances interspécifiques permettra de préciser quelques aspects de la barrière reproductive; puis le suivi de différentes étapes du processus d'introgression conduira à évaluer les potentialités agronomiques de ces formes sauvages. La discussion s'orientera sur les facteurs impliqués dans l'organisation évolutive du complexe d'espèces M. esculenta - M. glaziovii , et dans le processus de diversification du manioc en Afrique, afin d'en dégager les conséquences en termes de gestion et d'exploitation des ressources génétiques.

Développement des parties aériennes chez 2 cultivars présentant différents niveaux de ramification.









Récolte d'une variété à haut rendement cultivée sur un cycle de 10 mois.



Inflorescence de manioc: fleurs femelles épanouies (à la base de l'inflorescence), et fleurs mâles immatures.



Réduction de la surface foliaire due au virus de la mosaïque africaine du manioc.



Racourcissement des entrenœuds dû à la cochenille farineuse P. manihoti.

CHAPITRE I:

ORIGINE DE LA DIVERSITE GENETIQUE DU MANIOC

ESPECES	TUB	PRC	OT HON	AUTRES CARACTERES
M. aesculifolia (HBK) Pohl	+			adaptation aux sols pauvres
M. alutacea Rogers & Appan	-		+	espèce d'altitude, adaptation aux faibles températures, résistance à la toxicité des sols
M. angustiloba (Torrey) Muell-Arg	+			adaptation à la sécheresse
M. anisophylla (Grisebach) Muell- Arg				résistance au froid
M. anomala Pohl	+	-	+	adaptation aux zones humides
M. caerulescens Pohl	+	-	+	adaptation aux zones tropicales
				semi-arides, et aux sols sableux
M. catingae Ule				résistance à la mosaïque africaine
M. davisiae Croizat				adaptation à la sécheresse
M. dichotoma Ule				résistance à la mosaïque africaine et à la
	-			maladie des stries brunes
M. falcata Rogers & Appan	+		•	faible développement végétatif, adaptation
				aux sols bien drainés
M. fruticulosa (Pax) Rogers & Appan	+			faible développement végétatif
M. glaziovii Muell-Arg	-		+	résistance à la mosaïque africaine et à la
				bactériose vasculaire
M. gracilis Pohl	+	++	-	faible développement végétatif
M. grahami Hooker				résistance au froid
M.longepetiolata Pohl	+			types nains
M. nana Muell-Arg			+	types nains
M. neusana Nassar	-			résistance au froid, et aux insectes
M. oligantha Pax	+	++	en .	faible développement végétatif, adaptation à la sécheresse
M. paviaefolia Pohl	+	-	+-	faible développement végétatif, adaptation aux sols pauvres
M. peltata Pohl	-		+	résistance à la toxicité des sols
M. pentaphylla Pohl	-			faible développement végétatif, adaptation aux sols riches en Calcium
M. pringlei Watson				
M. procumbens Muell-Arg	-		+	faible développement végétatif, résistance à la toxicité des sols, adaptation aux sols pauvres
M. pruinosa Pohl	+	+ -		adaptation aux sols pauvres
M. pusilla Pohl	_	•	+-	types nains
M. reptans Pax	_		+	adaptation à tous types de sols
M. rubricaulis I.M. Johnston	+		•	tolérance au froid et à la sécheresse
M. stipularis Pax	•		+-	types nains, résistance à la toxicité des sols, et au froid
M. tomentosa Pohl	-		++	résistance à la sécheresse
M. tripartita (Sprengel) Muell-Arg	+	•	+-	résistance à la sécheresse, résistance aux maladies
M. tristis Muell-Arg (subsp. saxicola)	-	+	+	
M zohntnori IIIa	_			adaptation à tous tross de sols

Tableau 4: Principales espèces du genre Manihot pouvant intervenir dans l'amélioration du manioc: tubérisation (TUB), teneur en protéines (PROT), teneur en acide cyanhydrique (HCN), et autres caractères.

(d'après ANONYME, 1979; BOLHUIS, 1953; NASSAR, 1978b; NASSAR, 1979a; NASSAR, 1986; NICHOLS, 1947; ROGERS & APPAN, 1972)

adaptation à tous types de sols

+: présence ou forte teneur -: absence ou faible teneur

+-: teneur variable

M. zehntneri Ule

1°) Le complexe d'espèces du genre Manihot

1.1. La diversité des espèces du genre Manihot

La reconnaissance du genre *Manihot* est due à MILLER en 1754. Après de nombreux remaniements, c'est actuellement la classification de ROGERS & APPAN (1973) qui fait autorité.

Le genre Manihot constitue la tribu des Manihotées de la famille des Euphorbiacées. On reconnait 99 espèces (ROGERS & APPAN, 1973; NASSAR, 1986), dont une seule est cultivée pour ses racines tubérisées : Manihot esculenta Crantz. Certaines classifications antérieures élevaient au rang d'espèces les variétés douces et les variétés amères ; des synonymes de M.esculenta sont rencontrés dans la littérature : M. aipi Pohl, M. dulcis Pax, M. utilissima Pohl...

La diversification du genre *Manihot* fait intervenir les changements bioclimatiques survenus au cours du quaternaire (VUILLEUMIER, 1971), les migrations humaines à l'époque précolombienne (NASSAR, 1978a), et de fréquentes hybridations (ROGERS & APPAN,1973). On distingue 5 zones primaires de diversité des espèces du genre *Manihot* (GULICK *et al.*, 1983; BYRNE, 1984), distribuées entre 50° de latitude Nord (Sud Arizona) et 40° de latitude Sud (Nord

Argentine):

- Amérique Centrale;
- Colombie-Venezuela;
- Nord-Est Brésil:
- Plateau Central Brésilien;
- Paraguay-Sud Brésil-Bolivie.

ROGERS & APPAN (1973) ont réalisé une classification botanique en 19 sections d'après des spécimens en herbiers : 1 pour l'espèce cultivée M. esculenta, 2 pour les espèces d'Amérique Centrale, et 16 pour les espèces d'Amérique du Sud. Chaque zone de diversité se caractérise par des espèces qui lui sont propres, et seule la section des Hétérophyllées, proche de M. esculenta, est distribuée dans toute l'Amérique du Sud.

Le genre Manihot est constitué d'espèces pérennes, héliophiles, à distribution sporadique, cantonnées aux régions semi-arides ou aux zones perturbées des régions humides (ROGERS & APPAN, 1973). Elles sont pour la plupart sensibles au gel, et ne se rencontrent qu'à une altitude inférieure à 2000 m. On recense plus de 30 espèces ayant des caractéristiques qui peuvent intéresser directement l'amélioration du manioc (Tableau 4).

M. anomala Pohl	a
M. caerulescens Pohl	b
M. dichotoma Ule	a
M. esculenta Crantz	С
M. glaziovii Muell-Arg	d
M. gracilis Pohl	a
M. grahami Hooker (=M.tweedieana)	a
M. handroana N.D.Cruz	a
M. jolyana N.D.Cruz	a
M. nana Muell-Arg	a
M. oligantha Pax	a
M. pilosa Pohl (=M.pedicellaris)	a
M. pohlii Wawra	е
M. procumbens Muell-Arg	Ъ
M. pseudoglaziovii Pax & K. Hoffmann	е
M. stipularis Pax	b
M.t omentosa Pohl	a
M.t ripartita (Sprengel) Muell-Arg	a
M. zehntneri Üle	a

Tableau 5: Les espèces du genre Manihot à 2n=36 chromosomes. (d'après a: NASSAR, 1978c; b: NASSAR, 1979a; c: MAGOON et al., 1969; d: KRISHNAN et al., 1970; e: NASSAR et al., 1986)

1.2. Les structures génomiques

Les 19 espèces observées ont toutes 2n = 36 chromosomes (Tableau 5). L'étude de la morphologie des chromosomes au stade pachytène chez M. esculenta (MAGOON et al., 1969) suggère une origine polyploïde de ces espèces: le nombre de base n=18 est élevé pour une Euphorbiacée (généralement n est inférieur à 11); le manioc présente 3 chromosomes nucléolaires au lieu de 1 ou 2 chez les espèces diploïdes; enfin, le lot haploïde comprend 6 types chromosomiques dupliqués.

Par ailleurs, la régularité de la méïose observée chez la plupart des cultivars de manioc indiquerait une origine allopolyploïde. Néanmoins, JOS & NAIR (1979) ont observé des remaniements touchant cinq chromosomes chez un clone *M. esculenta* stérile.

MAGOON et al. (1970) ont montré que M. esculenta et M. glaziovii ont des lots chromosomiques homéologues. Les deux génomes seraient issus d'un ancêtre commun ayant subi des remaniements qui n'empêchent pas l'appariement (délétions terminales sur trois chromosomes différents chez les deux espèces); les deux types chromosomiques ségrègent indépendamment dans les gamètes d'un hybride F1.

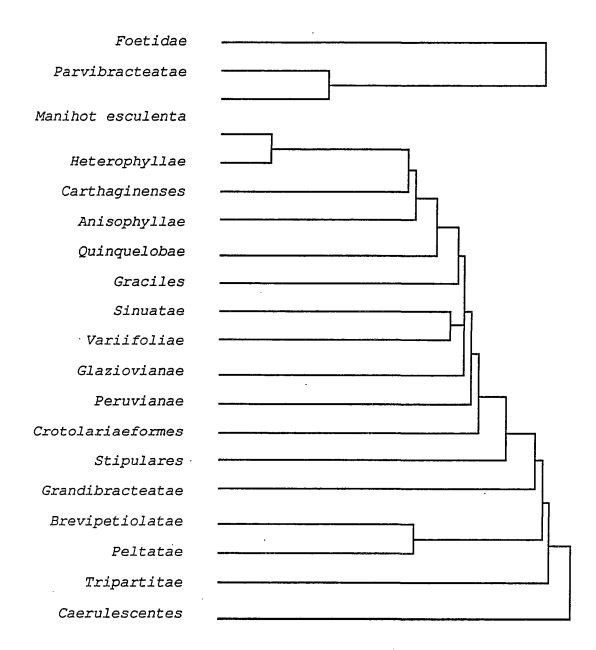
1.3. L'isolement reproductif

Le manioc *M. esculenta*, monoïque protogyne, a un régime de reproduction essentiellement allogame (bien qu'autocompatible) avec une pollinisation assurée par les insectes (KAWANO *et al.*, 1978). Les autres espèces sont monoïques ou dioïques. Toutes les espèces du genre *Manihot* présentent un ovaire à trois carpelles soudés, avec un ovule par loge.

De nombreux hybrides interspécifiques, entre le manioc cultivé et des espèces sauvages, ont été obtenus. Les taux de réussite de ces croisements dépendent des clones M. esculenta utilisés comme géniteurs ; de manière générale, de meilleurs résultats sont obtenus lorsque M. esculenta est utilisé comme femelle.

Des hybridations avec *M. glaziovii* ont réussi en Inde, en Indonésie, à Madagascar, en Afrique Orientale et Occidentale, et il est fait état d'échecs au Brésil (MAGOON et al., 1970; BOLHUIS, 1953; COURS, 1951; NICHOLS, 1947; JENNINGS, 1963; HAHN & THEBERGE, 1987; NASSAR et al., 1986). La fertilité augmente au fur et à mesure des recroisements sur *M. esculenta*: le nombre de graines obtenues par fleur pollinisée (inférieur ou égal à 3) passe de 0,07 en F1 à 0,40 pour certains back-cross de 1ère génération (BOLHUIS, 1967), et à 0,80 ou 1,00 pour certains back-cross de 3ème génération (JENNINGS, 1963).

SECTIONS D'AMERIQUE CENTRALE



SECTIONS D'AMERIQUE DU SUD

Figure 1: Classification botanique des espèces du genre Manihot, regroupées en sections d'Amérique Centrale ou d'Amérique du Sud. (d'après ROGERS & APPAN, 1973)

Les croisements avec *M. tristis* subsp. saxicola, réalisés à Java (BOLHUIS, 1953), ont donné des taux de réussite meilleurs que la plupart des combinaisons intraspécifiques, pouvant atteindre 0,83 en F1.

Avec *M. dichotoma*, les hybridations réalisées par NICHOLS (1947) en Tanzanie ont fait apparaître une stérilité totale de la plupart des F1.

Au Brésil, NASSAR (1980) a obtenu de bons taux de réussite avec M. oligantha (0,80), M. zehntneri (0,35), M. gracilis (0,33), et M. anomala (0,16); il a également obtenu des hybrides avec M. tripartita, M. procumbens et M. reptans. Les croisements avec M. pohlii ont donné peu de graines (0,002), et uniquement avec M. esculenta comme mâle. Les essais avec M.pseudoglaziovii et M. caerulescens ont échoué (NASSAR et al., 1986). Des hybrides "trispécifiques" ont été" obtenus par BOLHUIS (1967) en croisant M.tristis subsp. saxicola avec des back-cross de première génération issus de M. glaziovii.

La faiblesse de la barrière reproductive entre les espèces du genre *Manihot* a permis de fréquentes hybridations spontanées. Au Brésil, NASSAR (1984) mentionne l'existence de formes hybrides entre *M. reptans* et *M. alutacea*, une population de *M. reptans* montrant par ailleurs des traces d'introgression par *M. esculenta*. En Afrique, des hybrides spontanés entre *M. esculenta* et *M. glaziovii* ont été décrits par NICHOLS (1947), en Tanzanie sous le nom de "tree-cassava", à Madagascar (COURS, 1951), et vraisemblablement au Zaïre (INEAC, 1952).

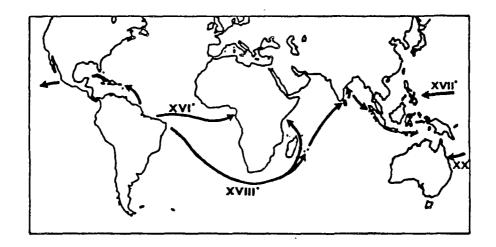
Remarque: Dans la classification de ROGERS & APPAN (1973), le taxon "M. melanobasis Muell. Arg.", qui a présenté une remarquable fertilité sur plusieurs générations avec M. esculenta ou avec des hybrides issus de M. glaziovii (JENNINGS, 1959), est intégré à l'espèce M.esculenta

2°) Domestication et dispersion du manioc

2.1. Domestication de M. esculenta

La faible différenciation des espèces du genre *Manihot* ne mettant pas en évidence de phyllogénie claire, l'origine génétique du cultigène *M. esculenta* reste indéterminée. La classification de ROGERS & APPAN (1973), réalisée d'après la description de spécimen en herbier, fait apparaître un chainage continu avec deux sections sensiblement plus proches de *M.esculenta* (Figure 1):

- les Parvibractéatées, d'Amérique Centrale, avec en particulier M. aesculifolia,
- les Hétérophyllées, d'Amérique du Sud, avec notamment M. tristis



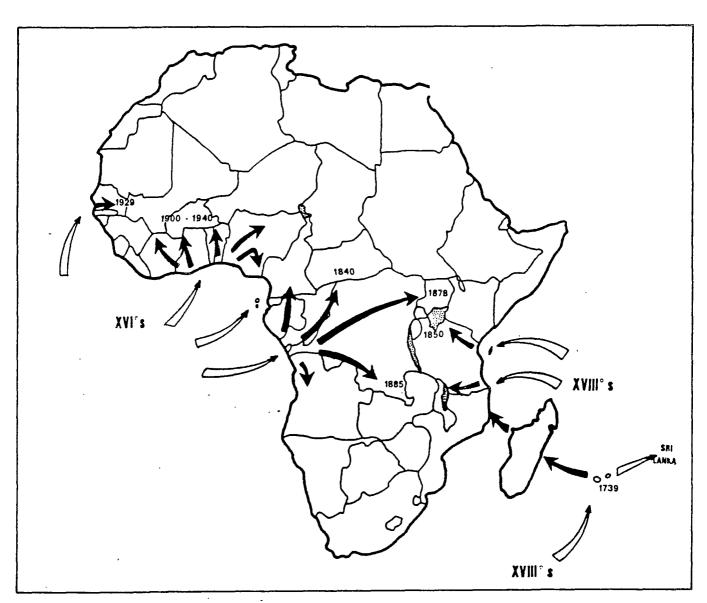


Figure 2: Les principales voies de dispersion de Manihot esculenta à travers le monde, et sa diffusion sur le continent africain.
(d'après BYRNE, 1984; JONES, 1959; SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983)

Plusieurs espèces produisant abondamment des tubercules ont pu être à l'origine de la domestication du manioc. Récemment, des formes sauvages morphologiquement plus proche de *M. esculenta* que *M. tristis* ont été observées (ALLEM, 1987), ce qui pourrait remettre en cause la classification précédente en intégrant certains taxons à *M. esculenta*.

VAVILOV (1951) situe le centre de domestication dans les zones semi-arides du Brésil. SILVESTRE & ARRAUDEAU (1983) font une revue des données archéologiques et ethnobotaniques qui témoignent d'une culture ancienne du manioc : au Mexique (grains d'amidon dans des coprolithes datés de 900 à 200 av J.C.), en Colombie (fourneaux à galettes de manioc datant de 1200 av J.C.), et au Venezuela (traces datées de 2700 av J.C.). UGENT et al. (1986) ont trouvé, dans la vallée de Casma au Pérou, des fossiles de manioc (fragments de tubercules, tiges et capsules), qu'ils ont datés de 1800 av J.C. Ces données suggèrent une domestication de type "non-centre" au sens de HARLAN (1971), à plusieurs dates et en plusieurs sites sur le continent américain. L'extension intracontinentale était déjà importante à l'époque précolombienne (BYRNE, 1984). Selon RENVOIZE (1972), la distribution géographique des variétés amères indiquerait une domestication dans la région amazonienne (suivie d'une diffusion par l'Orénoque), tandis que les variétés douces seraient plutôt originaires d'Amérique Centrale et du reste de l'Amérique du Sud.

Les auteurs s'accordent à penser que la variabilité de l'espèce cultivée continue de s'accroître par des échanges géniques importants avec les espèces sauvages (ROGERS & APPAN, 1973; BYRNE, 1984).

2.2. Diffusion intercontinentale

La dispersion intercontinentale du manioc est récente. On distingue deux voies d'introduction du manioc en Afrique (JONES, 1959; SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983) (Figure 2):

- la première, en Afrique de l'Ouest, date du milieu du XVI° siècle; les Portugais ont introduit des cultivars de la Côte Est du Brésil d'une part vers Sao Tomé et Principe, le Ghana et le Togo, et, d'autre part, à l'embouchure du fleuve Congo,
- la seconde, en Afrique de l'Est, date du XVIII° siècle ; la culture du manioc a été introduite via les îles de l'Océan Indien (Réunion et île Maurice), puis Madagascar et Zanzibar.

JONES (1959), à partir d'informations recueillies dans divers récits de voyageurs, a montré que l'établissement de la culture sur le continent africain s'est réalisée en deux étapes. Dans un premier temps, la culture est restée cantonnée aux zone littorales d'introduction. Puis ce n'est qu'à partir du XIX° s. que la diffusion intracontinentale s'est réalisée, lors des explorations vers l'Afrique Centrale, lors des migrations des populations Bantou dans la zone de forêt équatoriale, et

lors des déplacements saisonniers vers les régions côtières dans la zone soudannaise. Les cultivars issus des introductions faites en Afrique Equatoriale et en Afrique de l'Est, sont entrés en contact dans la région du lac Tanganyika à la fin du XIX° s. Par la suite, de nouvelles introductions de souches américaines ont été effectuées par les populations immigrantes au XIX° s., principalement en Afrique de l'Ouest, et, au XX° s., par les centres d'amélioration du manioc.

En Asie, on observe également une double introduction du manioc (BYRNE, 1984; SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983):

- aux Philippines, au début du XVII° s., les Espagnols ont introduit des cultivars d'Amérique Centrale;
- à Ceylan, au XVIII° s., à partir de la Réunion, et probablement plus tôt en Inde du Sud. Ces deux introductions se sont rencontrées au niveau de l'Indonésie.

Enfin, le manioc a récemment été introduit au Queensland, en Australie (SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983).

3°) Les autres espèces de Manihot en Afrique

3.1. Leur introduction

Plusieurs espèces de *Manihot* furent importées en Afrique de l'Est au début du XX° s., soit en tant qu'espèces ornementales, comme *M. dichotoma*, soit pour intervenir dans les schémas d'amélioration du manioc, comme *M. catingae* (originaire du Brésil) ou *M. tristis* subsp. saxicola (originaire du Surinam et ayant transité par Java), toutes deux introduites en Tanzanie par NICHOLS (1947).

L'espèce la plus largement répandue sur le continent est *M. glaziovii*, qui fut exploitée pour son latex sous le nom de "caoutchouc du Céara", en référence à son aire d'origine située au Nord-Est du Brésil. Du fait de son exploitation, on dispose de quelques informations sur l'introduction de cette espèce (ANONYME, 1902; HENRY, 1909; BORGET 1952). L'unité taxonomique du matériel diffusé reste douteuse : on parle de variétés à racines tubéreuses, ou à feuilles de type manioc, ou bien encore à très faible production de latex, 3 caractères que ne possède pas *M. glaziovii sensu stricto . M. glaziovii* fut introduit, à la fin du siècle dernier, en Afrique de l'Ouest (en Guinée Conakry et en Côte d'Ivoire en 1895, au Bénin, Togo et Burkina-Faso vers 1900), en Afrique Centrale (Congo en 1892, Centrafrique et Zaire vers 1900), en Afrique de l'Est (Tanzanie vers 1890, puis Mayotte en 1896 et Madagascar). Ces introductions font intervenir un fort effet de fondation : 5 exemplaires introduits en Guinée ont fourni toutes les

semences nécessaires aux plantations ultérieures.

Dans un premier temps, seules quelques plantations ont été établies en Afrique de l'Ouest et en Afrique Centrale. Des plantations plus importantes ont été intallées en Afrique de l'Est, sous l'impulsion des recherches menées à Amani, en Tanzanie (environ 30.000 ha cultivés en 1910). Les grandes plantations furent abandonnées dans les années 1920, en liaison avec le développement de l'hévéaculture. Les plantations villageoises furent néanmoins développées à grande échelle : 1,7 tonnes de graines ont ainsi été distribuées en 1926 en Centrafrique. Ces plantations étaient implantées à l'emplacement d'anciennes cultures de manioc (dernière culture avant jachère), aux abords des villages ou le long des pistes. L'exploitation fut définitivement abandonnée vers 1945, et, depuis, *M. glaziovii* n'est plus utilisé que comme arbre d'ombrage ou pour la consommation de ses feuilles (ROGERS & APPAN, 1973).

Plus récemment, d'autres espèces ont été introduites du Brésil au Nigéria (IITA, 1976).

3.2. Leur impact en sélection

Les travaux les plus importants ont été réalisés à Amani; ils avaient pour objectif le transfert de résistances à la mosaïque africaine et à la maladie des stries brunes. Les premières hybridations interspécifiques ont fait intervenir 4 espèces (sans compter "M. melanobasis").

Avec M. glaziovii , NICHOLS (1947) a obtenu 21 plantes F1 réparties en 4 familles. Plusieurs croisements ont été réalisés entre ces F1 ou avec M. esculenta, mais c'est une seule des F1 qui a fourni les 3 back-cross les plus résistants. Par ailleurs trois pieds de M. dichotoma ont été croisés avec plusieurs clones de manioc pour obtenir 32 plantes F1. Malgré la forte stérilité des F1, 54 descendants ont été obtenus après fécondation libre, qui ont donné eux-mêmes plus de 260 hybrides en intercroisement. Une partie de ce matériel a montré un bon comportement phytosanitaire. A partir d'un pied M. tristis subsp. saxicola, le même auteur a obtenu 13 F1 d'une même famille, d'où il a extrait 340 F2 par fécondation libre. Enfin, avec un hybride spontané M.esculenta x M. glaziovii, il a obtenu 27 F1 et finalement 95 clones de 2ème génération dont 43 avaient un bon comportement face aux maladies.

Par la suite, JENNINGS (1957) a réalisé de nombreux intercroisements entre ces différents hybrides, et a obtenu ainsi les premières variétés à résistances stables, dont le clone 5318/34.

A la fin du programme de Tanzanie, 5 clones introgressés ont été diffusés aux paysans (JENNINGS, 1976). En dehors de cela, une seule souche a été exploitée : 5318/34, dont des graines ont été diffusées aux sélectionneurs du Ghana et du Nigeria. Parmi ces graines le clone

58308 a été isolé et serait à l'origine de la moitié des variétés résistantes à la virose et à la bactériose, sélectionnées à l'IITA (HAHN & THEBERGE, 1987). D'autre part, les hybrides *M.esculenta* x *M. glaziovii* réalisés par COURS (1951) n'ayant pas donné de bons niveaux de résistance, cette souche tanzanienne (5318/34) a été également introduite à Madagascar (HAHN, 1978). En définitive, malgré un gros travail réalisé initialement, c'est finalement une base génétique relativement étroite qui est exploitée.

Plus récemment, HAHN a utilisé d'autres souches de *M. glaziovii* du Nigeria; une des espèces introduites du Brésil est également exploitée comme source de résistance aux cochenilles (HAHN, 1982).

CHAPITRE II:

DIVERSITE GENETIQUE AU SEIN D'UNE COLLECTION DE CULTIVARS DE M. esculenta

R.C.I.	R.C.A.	Madagascar	Togo	Nigéria	Kenya	Congo	Ghana	Amér. Sud	Inde
260	45	16	11	9	8	7	1	5	3

Tableau 6: Origine des échantillons de Manihot esculenta en collection.

VARIETES	ORIGINE		DESCENDANCES ISSUES DE FECONDATIONS				
			CONTROLEES				
41	R. C. A.		femelle	<u>mâle</u>	effectifs		
43	R. C. A.		V 3	V 22	10		
[V 7	V 17	39		
402	Nigéria	*	V 7	V 22	26		
1			V 22	V 22	9		
53	R. C. A.		402	V 17	14		
ļ			402	402	19		
. V3	R. C. I.		41	43 +	32		
1			41	41 +	19		
V 7	Nigéria	*	53	V 17	42		
1			53	V 22	41		
V 17	Nigéria	*	53	43 +	62		
			53	41 +	48		
V 22	Inde				TOTAL=361		

Tableau 7: Origine des descendances issues de fécondations contrôlées.

*: variétés introgressées par Manihot glaziovii

+: descendances obtenues par ZOUNDJIHEKPON (1986)

A. MATERIEL ET METHODES

1°) Le matériel végétal

1.1. La collection de cultivars M. esculenta

La collection du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé, qui existe depuis plus de 40 ans, a été complétée dans les années 1980 par des prospections en Côte d'Ivoire (ZOUNDJIHEKPON, 1983) et des échanges avec d'autres organismes: IDESSA (Côte d'Ivoire), IITA (Nigeria), KARI (Kenya). C'est une des principales collections du continent africain. Elle comprend 365 échantillons (Tableau 6) répartis en :

- 189 cultivars traditionnels prospectés en RCI;
- 71 variétés sélectionnées par l'IDESSA (RCI);
- 105 clones, traditionnels ou améliorés, d'origines diverses essentiellement africaines.

La collection est maintenue en plein champ, recépée à 10 mois, et replantée par bouturage vers 20 mois. La pression parasitaire est particulièrement forte à Adiopodoumé (mosaïque, bactériose, et cochenilles). Cette pression parasitaire est doublement importante: d'une part elle contribue à l'érosion de la collection avec la disparition des échantillons les moins adaptés, et, d'autre part, elle induit des difficultés lors de la description des clones, que ce soit d'après certains caractères botaniques (les principales maladies provoquent de fortes déformations des parties aériennes), ou d'après des caractères agronomiques. L'analyse de la diversité s'appuiera donc essentiellement sur des marqueurs qualitatifs stables.

1.2. Les descendances issues de fécondations contrôlées

Les hypothèses de déterminismes génétiques proposées pour les différents marqueurs, sont vérifiées sur 12 descendances intraspécifiques de *M. esculenta*. Quatre de ces descendances ont été obtenues et décrites par ZOUNDJIHEKPON (1986).

L'analyse porte sur 361 descendants répartis en 9 croisements et 3 autofécondations. Ces descendances font intervenir 8 parents qui ont été choisis en fonction de leur aptitude à la floraison et de leurs zymogrammes (Tableau 7). Le cas échéant, on regroupe les descendances d'un même individu hétérozygote croisé avec plusieurs homozygotes.

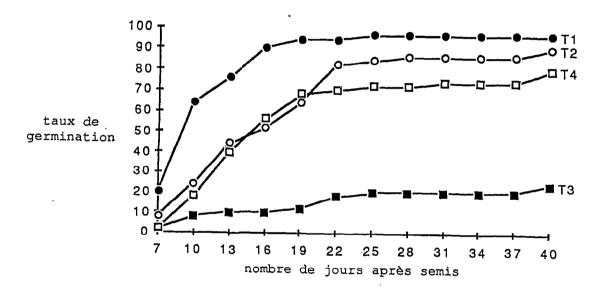


Figure 3: Effet de différents traitements sur la levée de la dormance. (voir texte)

2°) Obtention des descendances

2.1. La technique de fécondation

Certains cultivars de manioc ne fleurissent pas, d'autres fleurissent presque toute l'année. Dans les conditions d'Adiopodoumé, en basse Côte d'Ivoire, la floraison est plus importante pendant la saison sèche d'Octobre à Mars. Les croisements (19 combinaisons intraspécifiques) ont été effectués entre Décembre 1985 et Mars 1986, puis entre Août et Décembre 1986. Les fécondations sont réalisées par pollinisation manuelle, avec ensachage.

Sur une même inflorescence, les fleurs mâles ne s'ouvrent que plusieurs jours après les fleurs femelles. Sur différentes inflorescences d'un même pied, les fleurs femelles s'ouvrent vers 11 h., et les fleurs mâles vers 13 h. La maturité des fleurs est déterminée par leur gonflement, et la présence d'un abondant nectar à la base du disque nectarifère. Les fleurs mâles à maturité sont prélevées, encore fermées, le matin. Les fleurs femelles sont préensachées avant leur ouverture. L'inflorescence utilisée comme femelle est débarrassée des fleurs femelles ouvertes et des éventuelles fleurs mâles avancées. La pollinisation est faite le matin, la forte attirance des insectes par le nectar rendant son contrôle difficile après midi. Suivant l'intensité de la floraison, 60 à 100 fleurs femelles peuvent être pollinisées par jour.

La réceptivité des stigmates étant d'environ 24 h. (KAWANO, 1980), l'inflorescence est ensachée pendant 3 jours dans un sac en papier sulfurisé, hermétiquement fermé. La maturation du fruit dure 2 à 3 mois. Dès les premiers signes de dessèchement de la capsule, celle-ci est mise sous gaze afin d'éviter la dispersion des graines.

2.2. La germination des graines

Après récolte, les graines sont stockées en salle climatisée à 22°C environ, pendant 2 à 10 mois suivant les descendances. Afin de tester différents traitements destinés à lever la dormance, un essai préliminaire est réalisé sur des graines en vrac, récoltées simultanément sur un même clone et stockées pendant 2 mois. Après criblage par un test de flottaison, les graines sont stérilisées 30 mn à l'hypochlorite de Calcium 0,15N, puis abondamment rincées. Quatre traitements sont alors testés sur 50 graines :

- T1: séchage 14 jours à 60°C puis 24 h. d'humidification à l'air libre à température ambiante (CIAT, 1981);
- T2: séchage 4 jours à 45°C, en lumière rouge, puis 11 jours d'humidification;
- T3: T2 puis perforation du tégument externe;
- T4: T2 puis ablation de la caroncule.

CARACTERES	CODES	MODALITES	CODES	FQCES
Coloration de la Tige Jeune	TJ	vert clair	1	21
		vert foncé	2	51
		vert pourpre	3	28
Coloration de la Tige Aoûtée	TA	gris	1	48
		beige clair	2	22
		marron foncé ou noir	3	30
Port	PR	ramifié	1	27
		parasol	2	30
		erigé	3	42
Coloration de la Feuille Jeune	FJ	vert	1	57
		vert pourpre	2 C	35
		pourpre	3 C	8
Coloration de la Feuille Agée	FA	vert clair	1	25
		vert intense	2	35
		vert foncé à pourpre	3	40
Coloration du Pétiole	PE	vert uniformément	0	21
		vert sauf aux extrémités	1	22
		rouge vif	2 C	4
		pourpre	3 C	53
Coloration des Nervures	NΕ	non colorées	0	37
		colorées	1	63
Forme des Feuilles	Æ	pétiole < 1cm	0 *	1
		lobes lancéolés	1	70
		lobes linéaires	2 *	2
		lobes elliptiques	3	11
D1 24 1 1 1		lobes irréguliers	4	16
Pilosité du Limbe	PL	limbe et nervures secondaire	_	
		glabres	1	77
Director to Day	55	pubescents	2	23
Pilosité du Pétiole	PP	glabre	0	93
Farms des 8Tubendes	-	pubescent	1	7
Forme des "Tubercules"	FT	cônique dominant	1	86
Coloration de Méridame	-	cylindrique dominant	2	14
Coloration de l'épiderme	₽	clair	1	13
de la racine		foncé	2	87
Coloration du Phelloderme	PH	blanc	1	74
Amortumo (moliti	ANA	rose	2	26
Amertume (goût)	AM	doux	1	57
Présence de Velum foliaire	\/I	amer	2 .	43
i reserve de veium lonaire	VL	absent ou <1 mm	0	13
Coloration de la Chair	ан	> 2 mm	1	87
de la racine	UT	blanc	1 *	99
		jaune	2 *	1

c: regroupés dans l'analyse multivariée

Tableau 8: Les descripteurs botaniques et leur codification, fréquences observées dans la collection (x 100).

^{*:} non pris en compte dans l'analyse multivariée.

Les graines sont ensuite semées dans du sable stérilisé et placées à l'obscurité à la température constante de 33°C.

Compte tenu des résultats obtenus (Figure 3), les descendances sont traitées suivant le schéma : stérilisation --> T1 ou T2 --> semis à l'obscurité à 33°C.

Toutes les graines sont mises à germer sans criblage préalable.

3°) Les descripteurs morpho-physiologiques

3.1. Description botanique

L'identification des clones, et l'étude de la diversité morphologique de la collection sont basées sur 16 descripteurs botaniques (Tableau 8). Les codifications adoptées sont celles de ZOUNDJIHEKPON (1986), ou sont issues de GULICK et al. (1983). Deux notations, en 1986 et en 1987, ont permis de vérifier la stabilité des caractères tels qu'ils sont définis.

Seuls 308 échantillons ont une description morphologique complète, les 57 restant n'ont pas été observés à la récolte, car ils sont particulièrement sensibles aux attaques parasitaires, ou n'ont donné aucun tubercule.

3.2. Evaluation agronomique

3.2.1. Productivité

Une première série de mesures concerne la plantation d'Octobre 1983, recépée en 1984, et récoltée en Mars 1985 à 18 mois. La seconde série de mesures concerne la plantation de Mars 1985, recépée en 1986, et récoltée en Novembre 1986 à 20 mois. Les plantations sont faites en lignes de 10 boutures avec des espacements de 1m x 1m. Chaque échantillon est représenté par deux lignes contigües sans répétition, sauf en 1983 où les cultivars introduits cette année-là sont représentés par un nombre de pieds variable (17 cultivars sont représentés par moins de 5 pieds).

Pour le nombre de tiges par pied, le poids et le nombre de tubercules par pied, le taux de racines tubérisées et le poids moyen des tubercules, on calcule la moyenne des valeurs mesurées sur l'ensemble des pieds pour la plantation de 1983, et sur 16 pieds (excluant les deux pieds de bordure de chaque ligne) pour la plantation de 1985. Deux variables ayant une distribution fortement dissymétrique dans la collection sont transformées par la fonction Log (Figure 4).

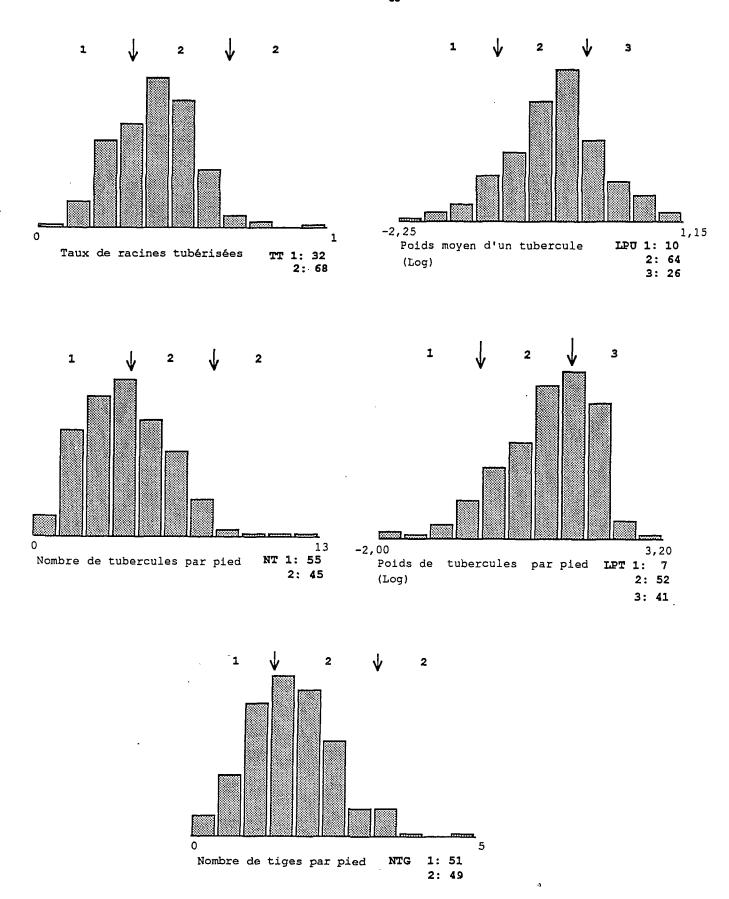


Figure 4: Distribution des variables de production (plantation de 1985), élaboration des classes, et fréquences observées dans la collection.

Lors de la comparaison des différents groupes de diversité, ces données sont traitées en variables qualitatives. Pour chaque variable, on distingue 3 classes d'amplitude égale, des regroupements entre deux classes sont parfois réalisés pour éviter d'avoir des effectifs trop faibles dans l'analyse (Figure 4).

3.2.2. Comportement phytosanitaire

Chez les plantes cultivées, on peut définir plusieurs types de relation hôte-parasite. En virologie, COOPER & JONES (1983) ont proposé de distinguer trois niveaux d'étude de la plante hôte:

- l'immunité, suivant qu'il est possible ou non de détecter la présence du pathogène dans la plante;
- la susceptibilité, pour décrire le comportement du virus dans la plante;
- la sensibilité, pour décrire la réaction de la plante face au virus.

Pour TAVANTZIS (1984), les situations effectivement observées sont complexes et ne s'adaptent pas toujours à de telles distinction. Dans l'étude épidémiologique de la mosaïque africaine du manioc, FARGETTE (1985) utilise le terme général de "résistance" (recip. "sensibilité"), en précisant à quelle phase du cycle parasitaire il se réfère: résistance à la diffusion du virus, résistance à l'expression des symptômes, résistance à la multiplication du virus, résistance en champ, résistance au vecteur, résistance à l'inoculation.

Au cours de cette étude, le comportement des plantes hôtes, face à tous les parasites étudiés (virus, bactéries ou insectes), sera évalué d'après l'expression des symptômes visibles, sans tenir compte des conséquences éventuelles sur le rendement, et indépendamment du comportement des pathogènes. Dans la suite du texte, on utilisera le terme de "résistance" (recip. "sensibilité") pour décrire ce comportement. Pour l'évaluation phytosanitaire de la collection de manioc *M. esculenta*, compte tenu du grand nombre d'échantillons observés sans répétition, on se limitera à l'attribution d'une note subjective allant de 1 à 3 pour chaque numéro de collection (Tableau 9).

3.2.3. Teneur en acide cyanhydrique

On distingue couramment les variétés douces des variétés amères. On peut également distinguer les variétés toxiques (plus de 200 ppm de HCN en poids frais) des variétés non toxiques (moins de 50 ppm). La liaison entre le goût et la toxicité n'est pas toujours respectée : toutes les variétés amères sont toxiques, mais certaines variétés douces le sont aussi. DE BRUIJN (1971) a montré que la teneur en acide cyanhydrique est plus forte dans les feuilles, lieu de synthèse des glucosides précurseurs (linamaroside et lautostraloside), et qu'elle est plus élevée dans les jeunes feuilles que dans les vieilles feuilles.

CARACTERES	CODES	MODALITES	CODES	FQCES
Sensibilité à la virose	VIR	peu sensible	1	28
		sensible	2	39
		très sensible	3	33
Sensibilité à la bactériose	BAC	peu sensible	1	10
		sensible	2	41
		très sensible	3	49

Tableau 9: Le comportement phytosanitaire et sa codification, fréquences observées dans la collection (x 100).

		TIONS (OURS D					
6	-		-	3	3	3	3
NOTE 5	-	-	2	2	3	3	3
A LA JEUNE 4	-	1	1	2	2	3	3
APRES 4H 3	1	1	1	1	2	3	3
2	1	1	1	1	2	3	3
(-: situation non observée)	0			3 BUEE / E APRE		5	6

CARACTERE	CODE	MODALITES	CODES	FQCES
Teneur en HCN	HCN	faible (type 136)	1	27
		moyenne (type 54)	2	34
		forte (type 147)	3	39

Tableau 10: Mesure d'un indice cyanhydrique foliaire d'après le dosage qualitatif réalisé sur une jeune feuille et une feuille âgée, codification et fréquences observées dans la collection (x 100).

Le test qualitatif de GUINARD est réalisé suivant une méthodologie adaptée de SILVESTRE et ARRAUDEAU (1983). Un fragment de feuille circulaire, de 2 cm de diamètre, est prélevé à l'emporte-pièce et déposé au fond d'un godet (8 x 3 cm). Une goutte de toluène est déposée sur le fragment végétal, puis le godet est immédiatement fermé, à l'aide d'un bouchon supportant une bande de papier filtre (7 x 1 cm) fraichement imbibée d'une solution de picrate de soude (Annexe I). La coloration du papier test, initialement jaune vif, tend vers le rouge brique, et se stabilise après 1 à 4 heures. On peut alors distinguer 7 teintes notées de 0 à 6.

Pour chaque échantillon, ce test est réalisé sur la plus jeune feuille déployée, et sur la plus vieille feuille non flétrie. Un indice cyanhydrique foliaire permet alors de situer l'échantillon par rapport aux clones n° 136 (A13), 54 (B33) et 147 (CB), étudiés par DE BRUIJN (1971), et que l'on utilise comme témoins lors de chaque expérience (Tableau 10). Ces notations sont faites en septembre 1987, sur des plants âgés de 10 mois.

4º Les marqueurs enzymatiques

4.1. La technique d'électrophorèse

Les marqueurs enzymatiques sont révélés après électrophorèse sur gel d'amidon, suivant les méthodes décrites par SECOND & TROUSLOT (1980).

On utilise un extrait brut de jeune feuille provenant d'apex en croissance (ZOUNDJIHEKPON & TOURE, 1983). L'utilisation d'un tampon d'extraction à base de ß-mercaptoéthanol et de polyclar (BERTHOU & TROUSLOT, 1977, Annexe II) permet d'éviter la dégradation des enzymes par les phénols et les quinones. L'extrait est obtenu à partir des quantités

- suivantes: -0,35 g. de feuille
 - 0,25 g. de polyclar
 - 0,25 ml. de Triton (solution à 10 %)
 - 0,50 ml. de tampon.

Le broyat est filtré à travers de la gaze, dans une seringue. Les feuilles peuvent être récoltées la veille de l'électrophorèse, et conservées au réfrigérateur dans des sacs plastiques gonflés d'air.

Pour certains systèmes (PGI), des extractions sont également réalisées à partir de pollen. On utilise alors un autre tampon d'extraction (WEEDEN & GOTTLIEB, 1979, Annexe II). Les fleurs mâles à maturité sont prélevées avant leur ouverture. Les anthères sont conservées dans un

OXYDOREDUCTASES	Isocitrate déshydrogénase (IDH)	E.C.1.1.1.42	pH 6,0
	Malate déshydrogénase (MDH)	E.C.1.1.1.37	pH 8,0
	Phospho-gluconate déshydrogénase (PGD)	E.C.1.1.1.43	pH 6,0
	Shikimate déshydrogénase (SKDH)	E.C.1.1.1.25	pH 8,0
TRANSFERASES	Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)	E.C.2.6.1.1	pH 6,0
	Phosphoglucomutase (PGM)	E.C.2.7.5.1	pH 8,0
HYDROLASES	Esterases (EST)	E.C.3.1.1.1	pH 6,0
	Leucine aminopeptidase (LAP)	E.C.3.4.11	pH 6,0
	Phosphatase acide (PAC)	E.C.3.1.3.2	pH 6,0
ISOMERASES	Phospho-glucose isomérase (PGI)	E.C.5.3.1.9	pH 8,0

Tableau 11: Les systèmes enzymatiques révélés et leur pH de migration sur gel d'amidon.

tube, dans un dessicateur, pendant au moins 6 heures. Cette étape permet de recueillir le pollen plus facilement. On ajoute ensuite le tampon (environ 3 ml pour 50 mg d'anthères). Les débris d'anthères sont enlevés après agitation. Le pollen est conservé dans le tampon, au froid, pendant une nuit.

La migration est faite sur des gels d'amidon à 13 %. On utilise un système Histidine-Citrate à pH 6,0 ou pH 8,0 suivant les systèmes. La migration a lieu en chambre froide à 5°C, les gels étant recouverts par de la glace, pendant 5 à 6 heures, à une intensité croissante de 6,5 à 8,5 V/cm.

Chaque gel de 6 mm d'épaisseur est coupé en tranches de 1,5 mm, et permet ainsi de révéler 3 systèmes enzymatiques (la tranche supérieure n'est pas révélée). Les méthodes de révélation sont celles de SECOND & TROUSLOT (1980), sauf en ce qui concerne les SKDH (méthode adaptée de TANSKLEY & RICK, 1980).

Cette méthodologie permet à une personne d'analyser 30 à 50 échantillons par jour pour 10 systèmes enzymatiques.

4.2. Les systèmes enzymatiques révélés

Dix systèmes enzymatiques sont révélés (Tableau 11). Dans une phase préliminaire, une cinquantaine de clones ont été passés en électrophorèse à partir de feuilles prélevées sur plusieurs pieds, à différentes dates, montrant des symptômes plus ou moins forts à la mosaïque. Pour l'étude de la diversité, seule la variation ayant montré une parfaite stabilité clonale lors de ces essais a été retenue. Les zymogrammes sont définis pour les conditions standards de stade de prélèvement, de migration, et de révélation, définies ci-dessus. Les principaux zymogrammes observés, leur description et leur interprétation, sont donnés dans l'annexe III.

5°) Les méthodes statistiques

La mesure des liens de parenté entre les individus est basée sur les méthodes statistiques multivariées décrites par BENZECRI (1980) et FENELON (1981) :

- -analyse en composantes principales normées (ACP), pour les variables quantitatives;
- analyse factorielle des correspondances (AFC), pour les variables qualitatives (après mise sous forme disjonctive, les données sont analysées d'après le Tableau de Burt des variables, les individus étant projetés en points supplémentaires).

Ces analyses fournissent une synthèse de l'information contenue dans les variables de départ, et la condensent dans un nombre restreint de nouvelles variables, indépendantes : les axes factoriels. Les axes factoriels sont ordonnés suivant la part de variabilité qu'ils représentent.

Les regroupements d'individus sont obtenus par classification ascendante hiérarchique (CAH, critère de la variance) sur les axes factoriels des analyses précédentes.

La pertinence des classifications est testée par analyse factorielle discriminante (AFD).

Tous les traitements statistiques utilisés dans cette étude (chapitres II et III) sont réalisées par le logiciel NDMS (NOIROT et al., à paraître), implanté sur micro-ordinateur GOUPIL 4.

B. DESCRIPTION DE LA COLLECTION

1°) Identification botanique et enzymatique des clones

La collection ORSTOM comprend de nombreux cultivars traditionnels dont 189 ont été prospectés en Côte d'Ivoire. En milieu paysan, les parcelles sont généralement polyclonales, et les échanges de boutures sont fréquents, même sur de grandes distances. Plusieurs cultivars portent le nom des personnes qui les ont introduits. Il en résulte que certains clones, particulièrement appréciés, ont pu être collectés plusieurs fois, en différents lieux, sous différentes appellations.

Afin d'éviter un trop grand biais dans l'analyse de la diversité, on se limitera à l'étude d'une "collection minimale", constituée de l'ensemble des génotypes que l'on est effectivement capable de distinguer (soit d'après les caractères botaniques, soit d'après leurs zymogrammes) sans répétitions. Compte tenu de l'absence de planification expérimentale permettant une évaluation fine des cultivars, les caractères morphologiques quantitatifs ne sont pas pris en compte dans l'identification (voir 2°).

Sur les 308 échantillons ayant une description morphologique complète, on distingue un minimum de 210 génotypes différents. Trente génotypes sont répétés, et parmi eux 2 sont représentés à plus de 20 exemplaires dans la collection. Les 210 génotypes distincts se répartissent en 147 types enzymatiques et 200 types morphologiques: dans certains cas, les marqueurs enzymatiques ne permettent pas de distinguer des clones morphologiquement différents, et réciproquement, dans d'autres cas, les descripteurs morphologiques ne suffisent pas à différencier les génotypes. Par ailleurs, sur l'ensemble des 365 numéros en collection, les 10 systèmes enzymatiques déterminent 184 types isozymiques différents (Tableau 12).

Finalement, l'étude de la diversité de cette collection portera successivement sur 200 morphotypes, puis sur 184 types électrophorétiques, la comparaison des deux approches portant sur un total de 210 génotypes effectivement distingués.

	NOMBRE D'ECHANTILLONS	GENOTYPES DISTINCTS	GENOTYPES COMMUNS			
Cultivars traditionnels de R.C.I.	189	81				
Variétés sélectionnées de R.C.I.	71	63	$\left\langle \begin{array}{c} 16 \\ \\ \end{array} \right\rangle$ 11 $\left\langle \begin{array}{c} 4 \\ \end{array} \right\rangle$			
Autres origines	105	67	> 4 / /			
TOTAL ECHANTILLONS = 365 TOTAL GENOTYPES = 184						

Tableau 12: Répartition des génotypes enzymatiques distingués dans la collection.

2°) Evaluation agronomique des clones

2.1. Evolution de la productivité au cours des cycles de bouturage

Un des problèmes posés par le maintien d'une collection en plein champ, sous forte pression parasitaire, est la contamination rapide de tous les bois de bouturage, ce qui ne permet pas d'obtenir un matériel de plantation homogène indispensable pour la mise en place d'un essai d'évaluation agronomique (RAFFAILLAC & NEDELEC, 1987).

Afin de décrire l'évolution de la productivité des clones en collection, 199 des 210 génotypes de la "collection minimale" sont répartis en deux groupes, étudiés lors des plantations de 1983 et 1985:

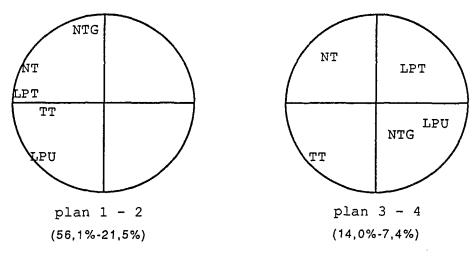
- 81 génotypes mis en collection en 1983 (1° et 2° années de production);
- 118 génotypes mis en collection avant 1981 (n° et n+1° années de production, avec n>3).

Sur l'ensemble de la collection, l'analyse en composantes principales réalisée sur les caractères agronomiques montre la même organisation de la diversité en 1983 et en 1985: pour les 2 dates de plantation, on retrouve les mêmes liaisons entre variables (sur la Figure 5, les cercles des corrélations se déduisent d'une année à l'autre par une simple rotation). En particulier, les 4 variables qui décrivent le rendement en racines sont fortement corrélées au 1° axe factoriel, cet axe de vigueur représentant 56% de l'inertie totale.

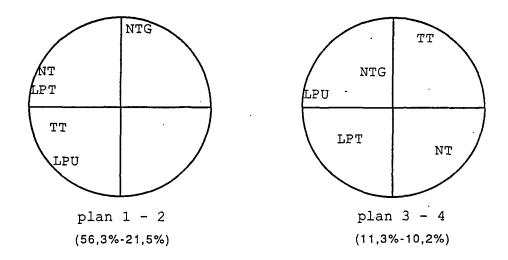
Une analyse de la variance sur cet axe de vigueur montre qu'il y a un fort effet "date de mise en collection" pour la plantation de 1983, et que cet effet disparaît lors de la plantation de 1985. Ce phénomène se retrouve au niveau du poids de tubercules par pied, du nombre de tubercules, et du taux de racines tubérisées (Figure 6).

Si on se réfère aux données de la plantation de 1983, on observe donc une moins bonne production des clones ayant subi plusieurs cycles de bouturage. Cet affaiblissement se traduit surtout par une diminution du taux de racines tubérisées, et influe peu sur le remplissage des tubercules.

D'autre part, la Figure 6 montre, pour l'ensemble des génotypes, une baisse de production entre la plantation de 1983 et celle de 1985, vraisemblablement liée à des conditions défavorables en 1985. On remarque que la baisse de production est beaucoup plus accentuée chez les clones récemment introduits, dont ce n'est que le second cycle de bouturage, la collection ancienne montrant par là une meilleure adaptation aux conditions d'Adiopodoumé.

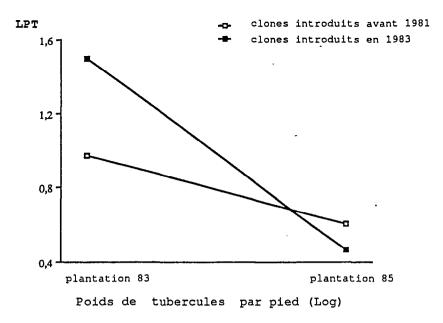


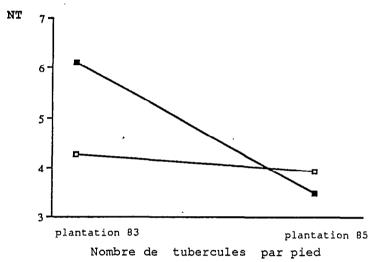
plantation 1983

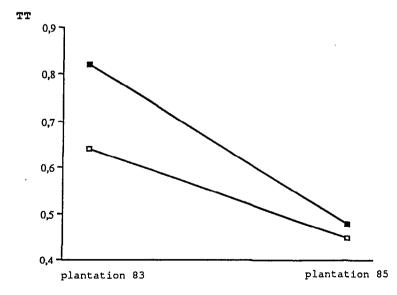


plantation 1985

Figure 5: Cercles des corrélations sur les plans principaux de deux A.C.P. portant sur les caractères de production, pour les plantations de 1983 et 1985.

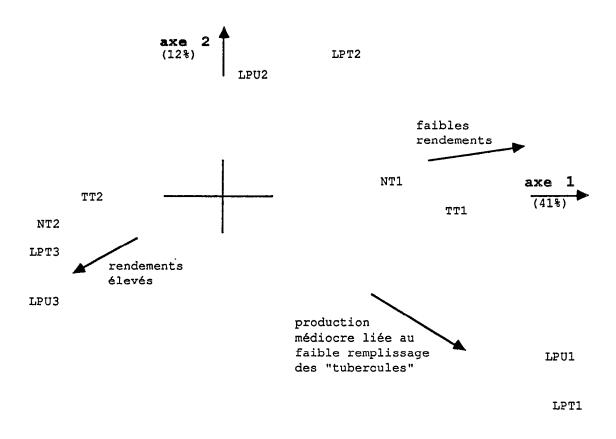






Taux de racines tubérisées

Figure 6: Evolution de la productivité des clones entre les plantations de 1983 et 1985, suivant leur date d'introduction dans la collection.



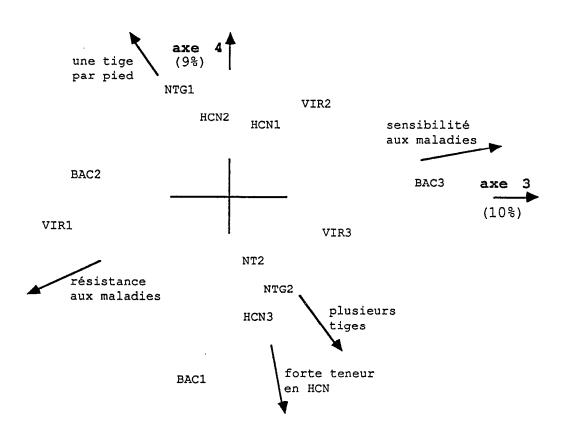


Figure 7: Plans factoriels 1-2 et 3-4 d'une A.F.C. portant sur les caractères de production des clones.

Finalement, il apparaît que l'étude de la diversité morpho-physiologique quantitative nécessiterait la prise en considération de facteurs "historiques". Ces paramètres n'étant pas maîtrisés, les données de production n'interviennent pas de manière active dans la classification des cultivars, elles ne sont utilisées que pour l'évaluation des ensembles définis par ailleurs.

2.2. Diversité de la production

On cherche ici à caractériser les différents comportements rencontrés dans la collection, au niveau du rendement (plantation de 1985), du comportement phytosanitaire, et des qualités organoleptiques (teneur en HCN). Afin d'homogénéiser les données, les mesures de production sont mises sous forme qualitative.

Les quatre premiers axes de l'analyse factorielle des correspondances représentent 72 % de l'inertie totale, le premier axe en représente à lui seul 41 %. La projection des variables sur les plans factoriels permet d'interpréter la signification de ces axes de diversité (Figure 7) :

- le premier axe caractérise le niveau de production;
- le deuxième axe isole un groupe d'individus dont la production est particulièrement médiocre;
- le troisième axe définit le comportement phytosanitaire;
- le quatrième axe caractérise l'importance des parties aériennes, et fait ressortir un groupe de cultivars à forte teneur en HCN et particulièrement résistants à la bactériose.

Dans la suite de l'analyse, l'évaluation de la production sera faite suivant ces quatre facteurs.

	SYSTEME		LOCUS	ALLELES
	EST	▼	A C	1 1-2
	GOT	▼ ▲	A B	1 1
A STATE OF THE STA	IDH	V A	A B	1 0-1
	LAP	•	Α	1-3
	МДН	▼ ▲	A B C	1-2 -3 0-1 1
	PAC	V A	A B	1 1-2
	PGD	V A	A B	0-1-2 1-2
	PGI	V	A B C	1 1-2 2
	PGM	•	A B	1-2 1
	SKDH	▼	Α	1-2-3-4

Nombre total de loci	20
Nombre de loci polymorphes	11
Nombre total d'allèles	35

Tableau 13: Le polymorphisme enzymatique révélé chez Manihot esculenta.

▼ : protéine monomérique

▼ : protéine dimérique

C. LES BASES GENETIQUES DE LA DIVERSITE

1°) Hérédité de deux caractères morphologiques

Actuellement, seuls trois caractères botaniques ont un déterminisme génétique connu:

- la coloration de l'épiderme de la racine, sous contrôle monogénique, la couleur marron foncée étant dominante sur la couleur marron claire (GRANER, 1942);
- la forme linéaire des lobes des feuilles, sous contrôle monogénique, la forme linéaire étant dominante sur les autres formes (GRANER, 1942);
- la coloration des nervures, sous contrôle monogénique, la présence de pigmentation anthocyanée étant dominante sur l'absence de pigmentation (KAWANO *et al.*, 1978; ZOUNDJIHEKPON, 1986).

Les ségrégations obtenues pour le caractère de coloration de l'épiderme de la racine concordent avec l'hypothèse de déterminisme proposée par GRANER (1942) (Annexe IV). Les ségrégations du caractère de couleur du phelloderme sont plus complexes, et ne peuvent s'interpréter simplement par un déterminisme à un ou deux loci; des effectifs plus importants seraient alors nécessaires pour interpréter le déterminisme de ce caractère.

2°) Hérédité des marqueurs enzymatiques

La diversité isozymique est décrite pour 20 loci, dont 11 sont polymorphes chez *M.esculenta* (Tableau 13). 26 allèles sont recensés dans les loci polymorphes. Les déterminismes génétiques proposés par ZOUNDJIHEKPON & TOURE (1985) pour les loci PGIB, ESTC et PACB, ainsi que leur hérédité disomique, sont confirmés dans les nouvelles descendances. Pour les 8 autres loci, les ségrégations obtenues concordent généralement avec l'hypothèse d'une hérédité disomique (Annexe IV).

Des distorsions de ségrégation sont observées dans les descendances de la variété n° 43 pour les loci PGDB et MDHA (dans les deux cas, on obtient 61:33 au lieu de 47:47). Ces mêmes descendances montrent également des distorsions au locus PACB (31:13 au lieu de 22:22; ZOUNDJIHEKPON, 1986). Les trois loci étant indépendants (Annexe V), ces distorsions pourraient faire intervenir des anomalies chromosomiques chez le clone n° 43. Un autre cas de distorsion est observé au locus IDHB (dans 1 descendance sur 6) qui présente un polymorphisme à allèles nuls.

En ce qui concerne les loci polymorphes chez *M. esculenta*, on observe un seul cas de liaison (Annexe V): on obtient 15,6 % de génotypes recombinés entre PGMA et MDHB.

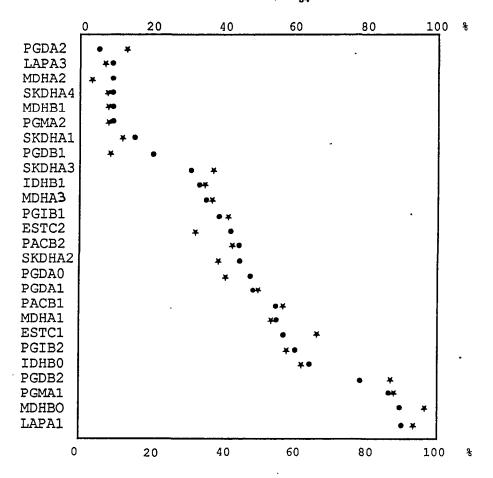


Figure 8: Fréquences alléliques observées dans la collection de Manihot esculenta (•) et sur l'échantillon de variétés de Côte d'Ivoire (*).

(les fréquences des allèles nuls, et des allèles MDHB1 et ESTC2, pas toujours observés à l'état hétérozygote, sont calculées en supposant l'équilibre panmictique)

	ENSEMBL	E DE LA	VARIETES DE		
	COLLECT	TION .	COTE D'I	VOIRE	
	fréquence	fréquence	fréquence	fréquence	
	observée	attendue	observée	attendue	
SKDHA	73,9	67,6	72,8	66,3	
PACB	54,3	49,5	56,8	48,7	
PGIB	53,8	49,5	56,8	49	
PGDB	37,5	33,2	13,6	13	
MDHA	16,8	14,7	6,2	5,8	
PGMA	18,5	18	13,6	16,4	
LAPA	15,2	14,7	7,4	7,7	

Tableau 14: Taux d'hétérozygotie observés et attendus (x 100) sous l'hypothèse de panmixie, sur l'ensemble de la collection de *Manihot esculenta* et le sous-échantillon de cultivars traditionnels de Côte d'Ivoire (aucun écart n'est significatif au seuil 0,05).

3°) Hétérozygotie observée

3.1. Le taux d'hétérozygotie

Les fréquences alléliques sur l'ensemble des 184 génotypes isozymiques sont présentées sur la Figure 8.

Au niveau de chaque locus, toutes les combinaisons alléliques sont rencontrées. La fréquence des génotypes hétérozygotes correspond à la situation attendue en cas de panmixie (Tableau 14).

Une estimation sans biais de l'hétérozygotie moyenne est donnée par la formule de NEI (1978):

$$H = \frac{1}{r} \sum_{k=1}^{n} 2n (1 - \sum_{k=1}^{n} xik^{2}) / (2n - 1)$$

avec xik = fréquence estimée de l'allèle i du locus k

n = effectif de la population

r = nombre de loci observés

La variance de cet estimateur est donnée par:

$$V(H) = \frac{1}{r} \left(\frac{2M}{(M+1)(M+2)(M+3)} + \frac{2M(M+4) + 8(n-1)M}{2n(2n-1)(M+1)(M+2)(M+3)} \right)$$

avec
$$M \sim H/(1-H)$$

Ici, pour n = 184 génotypes, et r = 20 loci, l'hétérozygotie moyenne de *M. esculenta* est: H = 0.225 (V(H)=0.0023).

3.2. La part d'hétérozygotie fixée

Sur les 20 loci déterminés, on observe 3 cas d'interaction entre isozymes (formation d'hétérodimères entre les produits de gènes différents), qui peuvent s'interpréter comme le résultat d'une duplication de gènes (GOTTLIEB, 1977).

Les PGI sont codées par 3 loci au lieu de 2 chez la plupart des espèces végétales (pour une revue, voir GOTTLIEB, 1982). Les zymogrammes observés sur les extraits de pollen se caractérisent par l'absence de bandes hétérodimères intra-locus, et le maintien des hétérodimères

inter-loci (Annexe III). Une interaction est ainsi détectée entre les isozymes de la partie cytosolique PGIA et PGIC

Les MDH sont codées par 3 loci, ce nombre variant de 3 à 4 chez les autres espèces. On observe une formation de bandes hétérodimères entre les produits des gènes MDHA et MDHC (Annexe III).

Les PGD sont codées par au moins trois loci, au lieu de deux chez la plupart des espèces. Il y a interaction entre les loci PGDA et PGDB qui codent pour des isozymes à migration rapide (Annexe III).

Ces interactions constituent un supplément d'hétérozygotie, fixée, dans le génome du manioc.

4°) Répartition géographique des allèles enzymatiques

La Figure 8 montre que les fréquences alléliques du sous-échantillon des variétés traditionnelles de RCI sont voisines des fréquences globales. En particulier, les allèles rares en Côte d'Ivoire le sont également sur le reste de la collection. Parallèlement, en Côte d'Ivoire, les taux d'hétérozygotie observés correspondent à l'équilibre panmictique (Tableau 14).

D. STRUCTURATION DE LA DIVERSITE GENETIQUE : ANALYSE DES COMBINAISONS

L'analyse locus par locus fait donc apparaître une distribution uniforme de la diversité, tant au niveau géographique qu'à l'intérieur du génome. Néanmoins, on observe plusieurs discontinuités, en particulier au niveau des descripteurs botaniques on remarque des associations qui n'ont pas, *a priori*, de base physiologique: ces liaisons suggèrent l'existence d'une structuration de la variabilité.

1°) La démarche

Les distances génétiques entre individus (morphotypes, types enzymatiques, ou génotypes) sont estimées par la distance euclidienne, obtenue d'après les axes factoriels d'analyses multivariées. Cet outil mathématique paraît particulièrement bien adapté à l'étude des liens de parenté entre génotypes :

- il prend en compte simultanément l'ensemble des marqueurs (dans le cas présent, la situation de panmixie indique que chaque marqueur, pris indépendamment, n'apporte que peu d'information);
- il prend en compte simultanément l'ensemble des génotypes.

Etant donnée l'absence d'information a priori sur l'organisation de la diversité, la démarche adoptée est la suivante :

- mesure des distances par AFC;
- recherche d'une structure "a priori": à partir de la population initiale, on crée 3 sous-échantillons aléatoires de 99 individus, sur lesquels on réalise 3 classifications (CAH) d'après les 4 premiers axes de l'AFC; l'observation des individus communs aux 3 sous-échantillons, et de leurs regroupements stables dans les 3 CAH, permet de proposer un nombre de classes a priori avec, pour chacune, des individus types;
- agrégation de l'ensemble des individus autour des individus types précédents par analyses discriminantes successives, jusqu'à approcher 100% de bien classés.

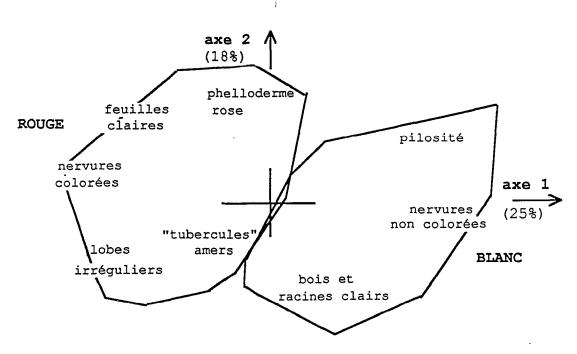


Figure 9: Plan factoriel 1-2 d'une A.F.C. portant sur les descripteurs morphologiques, projection des enveloppes des groupes "ROUGE" et "BLANC".

2°) Approche morphologique

2.1. Classification botanique des variétés

L'analyse porte sur les 15 descripteurs botaniques pour lesquels le type le plus fréquent n'excède pas 95% dans la collection. Après regroupement de certaines modalités pour obtenir des effectifs homogènes, le fichier disjonctif est constitué de 36 variables actives (Tableau 8).

Les 4 premiers axes de l'AFC représentent 62% de l'inertie, 23 des 36 variables y sont représentées à plus de 50% (somme des contributions relatives à ces axes) :

- le 1er axe (25%) est un axe de pigmentation de la jeune tige, du pétiole et des nervures;
- le 2ème axe (18%) oppose des clones ayant des racines à phelloderme rose, des jeunes feuilles non anthocyanées, des feuilles adultes vert clair et/ou un port ramifié, à des clones ayant des jeunes feuilles anthocyanées, des tubercules amers, et/ou des tubercules à épiderme marron clair;
- le 3ème axe (11%) oppose des clones sans pigmentation sur le pétiole des feuilles, à velum réduit, et/ou ayant des feuilles à lobes elliptiques, à des clones aux jeunes feuilles fortement pubescentes;
- le 4ème axe (8%) isole des clones à tiges de couleur beige clair, à tubercules à épiderme marron clair, plutôt cylindriques, et à feuilles dépourvues de velum.

En dehors de la liaison entre les caractères de pigmentation, on voit ressortir 4 associations principales (Figure 9):

type I : feuilles à lobes irréguliers et tubercules amers;

type II : feuilles adultes vert clair et racines à phelloderme rose;

type III: tiges beige clair et tubercules à épiderme marron clair;

type IV: limbe et pétiole des jeunes feuilles pubescents.

Les 3 classifications hiérarchiques font nettement apparaître une structure en deux groupes. Ceux-ci sont définis par les axes 1, 2 et 4 (100% de bien classés dans l'analyse discriminante suivant ces axes). Une analyse de la variance montre qu'ils s'opposent au niveau de chacun de ces axes pris indépendamment.

On définit un groupe "ROUGE": génotypes présentant des feuilles à pétioles et nervures fortement anthocyanés, appartenant soit au type I, soit au type II.

Celui-ci s'oppose à un groupe "BLANC" : génotypes présentant des feuilles à pétioles et nervures faiblement anthocyanés et à limbes plutôt foncées. Ce groupe renferme les types III et IV.

	Source de variation	SCE	DDL	СМ	F	
AXE 1	Totale	66,8	198			
	Facteur GROUPE	1,96	1	1,96	5,96	*
	Résiduelle	64,84	197	0,329		
AXE 2	Totale	36	198	 		
AVE 2			190	0.54	0.00	
	Facteur GROUPE	0,51	1	0,51	2,83	-
	Résiduelle	35,49	197	0,18		
AXE 3	Totale	33,53	198			
	Facteur GROUPE	0,45	1	0,455	2,71	-
	Résiduelle	33,07	197	0,168	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
					· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
AXE 4	Totale	32,48	198			
	Facteur GROUPE	0,09	1	0,09	0,55	-
	Résiduelle	32,39	197	0,164		

Tableau 15: Comparaison des groupes morphologiques d'après les axes de la production définis en B. seuil de signification: $-0.05 < \alpha$

1 de signification: $-0.05 < \alpha$ * $0.01 < \alpha < 0.05$ ** $0.001 < \alpha < 0.01$ *** $\alpha < 0.001$ La méthodologie employée ne permet pas d'obtenir une classification en 4 groupes qui soit satisfaisante.

2.2. Evaluation agronomique des groupes morphologiques

L'analyse de la variance fait apparaître un effet "groupe botanique" sur le premier facteur défini lors de l'étude de la production (cf. B) : les individus du groupe "ROUGE" ont des rendements supérieurs à ceux du groupe "BLANC". Il n'y a pas d'effet significatif sur les autres axes (Tableau 15). La structuration de la diversité, mise en évidence d'après les marqueurs botaniques, conserve donc une certaine signification au niveau des paramètres de la production.

3°) Approche biochimique

3.1. Les étapes de l'analyse

Contrairement à l'étude précédente, qui était purement phénotypique, cette analyse porte sur le génotype. Pour l'étude des combinaisons, chaque allèle de chaque locus est directement codé sous une forme disjonctive: 1 pour la présence et 0 pour l'absence.

Des résultats préliminaires ont conduit à procéder en deux étapes. En effet, dans les analyses multivariées, les allèles peu fréquents, qui ont une masse faible, ont une contribution d'autant plus forte à l'inertie du nuage. Il en résulte que seuls les individus ayant ces allèles sont efficacement comparés (ils sont peu nombreux). L'analyse tend à se résumer à une classification de type disjonctif, avec une classe par allèle rare, alors que l'objectif initial était de comparer des combinaisons alléliques.

L'étude de ces combinaisons porte donc, dans un premier temps, sur les 10 allèles communs, non nuls, ayant une fréquence comprise entre 22% et 78%. Cette coupure, qui correspond à la probabilité de 5% d'avoir un homozygote rare, et qui correspond à une discontinuité dans la courbe des fréquences observées (Figure 8), donne, dans l'analyse, des variables de masses homogènes. Dans un deuxième temps, l'analyse porte sur l'ensemble des 20 allèles non nuls (les allèles ESTC2 et MDHA1, pas toujours décelés lorsqu'ils sont à l'état hétérozygote ne sont pas pris en compte).

Remarque: Au cours de l'analyse on appellera "allèles rares" les allèles ayant une fréquence inférieure à 22%, par opposition aux allèles communs.

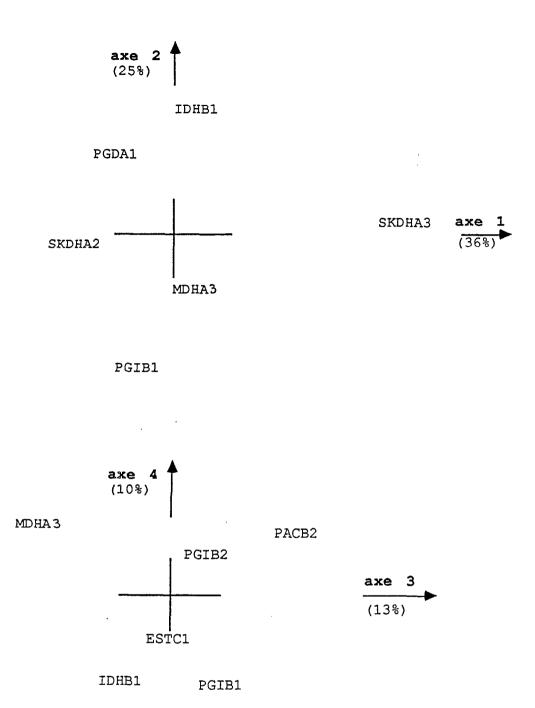


Figure 10: Plans factoriels 1-2 et 3-4 d'une A.F.C. portant sur le polymorphisme d'allèles communs.

3.2. Le polymorphisme d'allèles communs

Les 184 génotypes enzymatiques définissent 115 combinaisons des 10 allèles communs. Les 4 premiers axes de l'AFC représentent 84% de l'inertie totale (Figure 10):

- le 1er axe (36%) montre que les allèles SKDHA2 et SKDHA3 sont généralement impliqués dans des combinaisons alléliques différentes, même si, comme on l'a vu, il n'y a pas d'écart à la panmixie à ce locus;
- le 2ème axe (25%) montre une situation de déséquilibre au niveau d'associations faisant intervenir les allèles PGDA1, IDHB1, MDHA3, et PGIB1;
- le 3ème axe (13%) oppose des associations avec PACB2 et des associations avec MDHA3
- le 4ème axe (10%) oppose des associations avec PGIB1 ou IDBH1 et des associations avec PACB2 ou MDHA3.

Les classifications hiérarchiques réalisées d'après ces quatre axes révèlent une structure évidente en deux groupes (Figure 11). Cette organisation est validée à 100% par l'axe 1.

L'un des groupes se caractérise par l'absence de l'allèle SKDHA3, mais ce n'est pas cette absence qui définit le groupe : dans l'autre groupe, on trouve également des individus n'ayant pas SKDHA3, l'analyse discriminante de ces groupes sur les autres allèles donne encore 74% de bien classés. On appellera ces deux ensembles "BONOUA" et "CB", du nom de variétés types qu'ils renferment.

3.3. Analyse globale du polymorphisme enzymatique

Les groupes BONOUA et CB diffèrent au niveau de l'ensemble des fréquences alléliques (Tableau 16). Chacun des groupes apparaît en situation panmictique par rapport à ses propres fréquences, et en déséquilibre par rapport aux fréquences de l'autre groupe. Chaque allèle rare est présent dans les deux groupes, à fréquence toujours plus élevée dans le groupe CB.

Certaines associations entre allèles rares sont spécifiques de l'un ou l'autre groupe :

CB: PGDB1-PGMA2, MDHA2-SKDHA1

BONOUA: SKDHA1-PGDA2, MDHA2-LAPA3

ou sont beaucoup plus marquées dans un des deux groupes :

BONOUA: MDHA2-PGDB1 (ces 2 loci étant indépendants).

Comme les analyses préliminaires le laissaient présumer, les 4 premiers axes de l'AFC portant sur l'ensemble des marqueurs enzymatiques, soit 76% de l'inertie totale, sont presque exclusivement définis par des allèles rares: la moyenne des contributions absolues à chacun de ces axes varie de 4% à 20% pour les allèles rares, elle est de 7% pour SKDHA3, et varie de 0,1% à

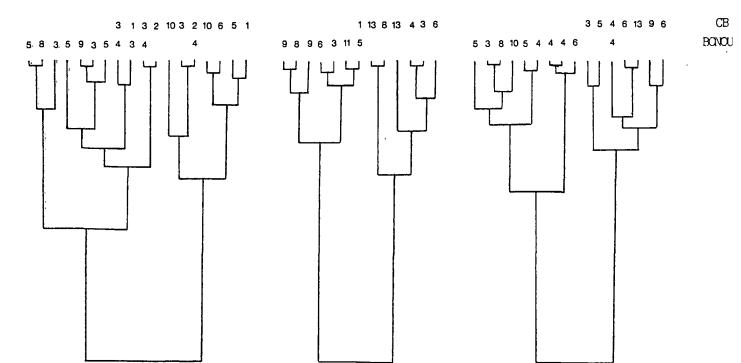


Figure 11: Structuration de la diversité d'après le polymorphisme d'allèles communs, dendogrammes obtenus par C.A.H. sur 3 sous-échantillons aléatoires de 99 génotypes.

(les derniers nœuds représentés sont caractérisés par le nombre de génotypes affectés aux groupes "CB" et "BONOUA" lors de l'analyse discriminante globale)

	POLYMORPHISME D'ALLELES COMMUNS									
	SKDHA2	SKDHA3	MDHA3	IDHB1	PGDA1	PACB1	PACB2	ESTC1	PGIB1	PGIB2
BONOUA	27	58	42	38	43	52	48	69	34	66
СВ	65	0	35	. 29	54	58	42	47	44	56
COLLECTION	45	30	39	34	48	55	45	57	39	61

	POLYMORPHISME D'ALLELES "RARES"									
	SKDHA1	PGDB1	SKDHA4	MDHA2	PGMA2	LAPA3	PGDA2	PGDB2	PGMA1	LAPA1
BONOUA	9	16	6	8	8	7	4	84	92	93
CB ·	24	26	11	9	13	8	5	74	87	92
COLLECTION	16	21	8	8	10	8	5	79	90	92

Tableau 16: Fréquences alléliques (x 100) au sein des groupes BONOUA et CB, et sur l'ensemble de la collection de *Manihot esculenta*.

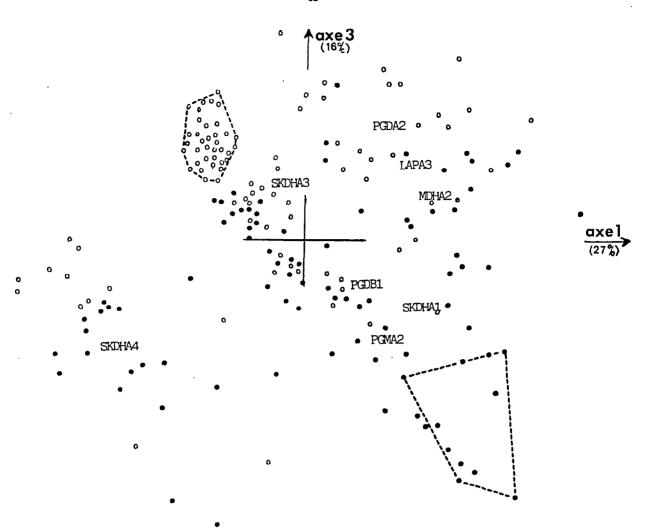


Figure 12: Plan factoriel 1-3 d'une A.F.C. portant sur le polymorphisme enzymatique global (20 allèles), projection des groupes "CB" (•) et "BONOUA" (•) définis sur la base des 10 allèles communs, et figuration des noyaux de fort apparentement.

	combinaisons d'allèles rares en commun	un allèle rare en commun	pas d'allèle rare en commun	un allèle rare différent	combinaisons différentes d'allèles rares
même groupe de combinaisons d'allèles communs	А	В	С	D	E
groupes différents de combinaisons d'allèles communs	F	G	Н	ı	J

Tableau 17: Les différents niveaux d'agrégation des génotypes d'après le polymorphisme isozymique.

2% pour les autres allèles communs. Néanmoins, après analyse discriminante, la classification précédente en deux groupes CB et BONOUA reste validée à 81,5% par ces axes. Une représentation synthétique de la variabilité enzymatique est donnée par le plan factoriel 1-3 de l'AFC globale (Figure 12).

Il y a plusieurs niveaux possibles d'agrégation des individus, suivant l'homologie des combinaisons alléliques et la présence d'allèles rares. On peut les résumer en 10 situations (Tableau 17). Par extrapolation, on obtient une mesure du degré de parenté : les clones regroupés au niveau A sont fortement apparentés, ce sont les pôles de variabilité les plus clairement mis en évidence par les marqueurs utilisés; les cas B à I représentent diverses situations intermédiaires (dans l'ordre d'une "distance génétique croissante" si l'on se réfère au nombre de gènes nécessaires pour réaliser l'agrégation); la situation J correspond à la plus grande distance génétique décelable.

On peut ainsi définir 2 noyaux de fort apparentement (Figure 12). Le premier est constitué de 11 génotypes regroupés au niveau A du Tableau 17: ils appartiennent tous au groupe CB, et possèdent la combinaison d'allèles rares SKDHA1-PGDB1-PGMA2 (sous l'hypothèse d'indépendance, la probabilité d'avoir une fois cette combinaison est: p<0,026). Cette combinaison n'est jamais associée à d'autres allèles rares. On retrouve 1 ou 2 de ces 3 allèles dans d'autres génotypes des groupes CB et BONOUA. Le second noyau est représenté par 36 génotypes du groupe BONOUA regroupés au niveau C, n'ayant aucun allèle rare (p<0,18).

Ailleurs, deux génotypes présentent l'association MDHA2-LAPA3 et l'absence de tout allèle rare (p<0,006), sur une combinaison d'allèles communs du type BONOUA. On retrouve MDHA2-LAPA3, associé à 1 ou 2 des allèles rares du premier ensemble de 11 génotypes, chez des individus des groupes CB et BONOUA. Enfin, l'allèle SKDHA4, plus fréquent dans le groupe CB, y est en "déséquilibre de liaison" avec l'allèle SKDHA1 (intra-locus).

3.4. Evaluation agronomique des groupes enzymatiques

Si l'on réalise une classification des clones sur la base des combinaisons d'allèles communs (groupes CB et BONOUA), l'analyse de la variance ne montre pas d'effet "groupe enzymatique" sur les 4 facteurs de production définis en B. On remarque néanmoins que les clones à production médiocre, isolés sur l'axe 2, font partie du groupe BONOUA.

Globalement, les groupes CB et BONOUA montrent les mêmes potentialités agronomiques. La principale discontinuité observée au niveau enzymatique ne se reflète que partiellement au niveau de la productivité. Les faibles effectifs ne permettent pas de tester une classification enzymatique plus fine, basée sur les noyaux de fort apparentement définis ci-dessus.

4°) Vision synthétique

4.1. Divergences et convergences des deux approches

L'approche morphologique et l'approche biochimique scindent la collection en deux sous-ensembles : groupes "ROUGE" et "BLANC", groupes "BONOUA" et "CB". Ces deux classifications ne concordent pas :

	BONOUA	CB		
ROUGE	71	47		
BLANC	53	39	$(X^2 = 0.14;$	$\alpha = 0,70$

Malgré cette différence au niveau de la schématisation de l'organisation de la diversité, on observe d'importantes similitudes, globalement, au niveau du nuage des individus : en particulier, les groupes BONOUA et CB sont bien séparés par l'axe 2 de l'analyse morphologique (Figure 13). Ceci tend à montrer qu'une même structuration sous-jacente est révélée par les deux approches.

On remarque que la classification enzymatique reflète mieux la diversité morphologique, que la classification morphologique ne reflète la diversité enzymatique :

- discrimination des groupes enzymatiques par les axes factoriels de l'analyse morphologique
 - ---> 70 % de bien classés
- discrimination des groupes morphologiques par les axes factoriels de l'analyse enzymatique

---> 60 % de bien classés. (
$$X^2=5,08$$
; $\alpha=0,025$)

Il apparaît donc que l'approche biochimique fournit une meilleure description de la diversité génétique globale, l'organisation au niveau isozymique conservant une signification au niveau morphologique. Dans ce cadre, on peut conserver l'image de la diversité donnée par les marqueurs enzymatiques, avec deux grands groupes BONOUA et CB et toute une frange d'intermédiaires. Les données morphologiques apportent des précisions notamment au niveau intragroupe.

Les groupes BONOUA et CB se distinguent par la fréquence de certains caractères morphologiques (Figure 14) : le groupe CB comprend moins de variétés douces, moins de clones à port ramifié ou à phelloderme rose, et plus de clones à jeunes feuilles colorées ou à feuilles adultes foncées. On observe également des liaisons caractéristiques de l'un ou l'autre de ces groupes :

CB: port érigé - lobes irréguliers - tubercules amers

BONOUA: phelloderme rose - tubercules doux

(cette association est bien connue des cultivateurs et des consommateurs en Côte d'Ivoire).

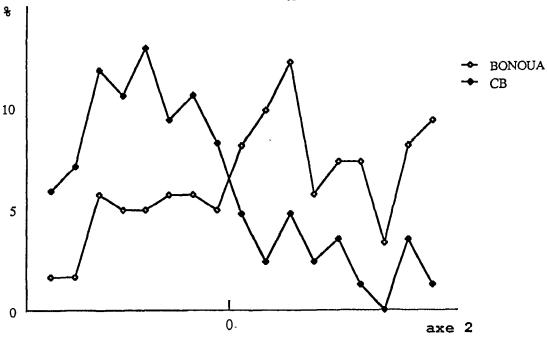


Figure 13: Fréquences des groupes enzymatiques "CB" et "BONOUA" le long de l'axe 2 de l'A.F.C. portant sur les variables morphologiques.

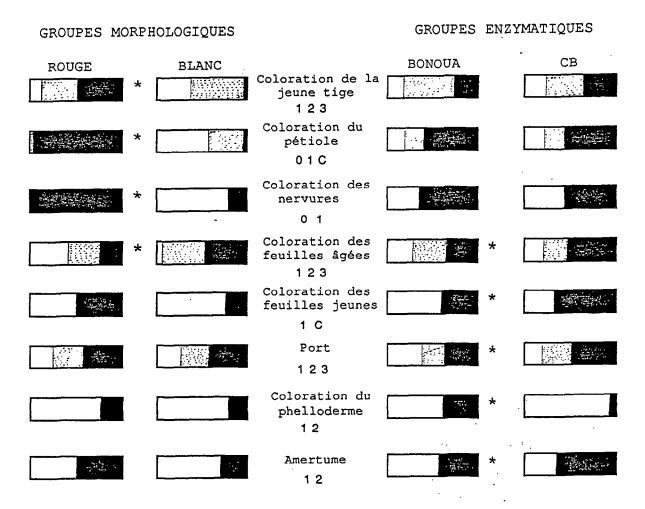


Figure 14: Caractérisation des différents groupes d'après la fréquence de chaque type morphologique.

*: caractère discriminant d'après un test X² au seuil q=0,01

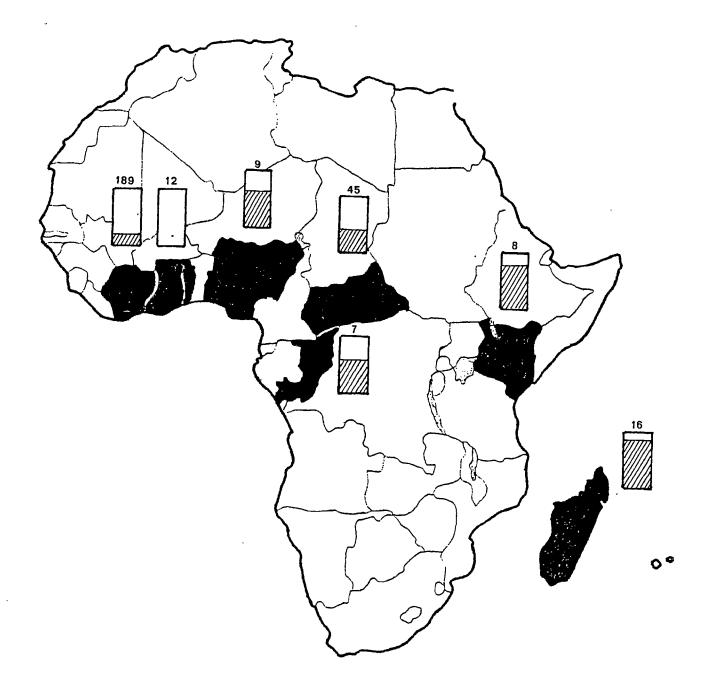


Figure 15: Distribution géographique des groupes enzymatiques "CB" (2) et "BONOUA" (1) au sein de la collection.

(le nombre d'échantillons est indiqué pour chaque origine, pour la Côte d'Ivoire seuls les cultivars traditionnels sont pris en compte)

4.2. Organisation de la diversité au sein de la collection de maniocs africains

L'étude des combinaisons fait donc bien apparaître une variabilité génétique structurée. Le principal niveau d'organisation est l'opposition entre :

- un noyau constitué de 11 génotypes du groupe CB, ayant en commun une combinaison particulière d'allèles rares, et présentant des types morphologiques voisins;
- un noyau constitué de 36 génotypes du groupe BONOUA, présentant la particularité de n'avoir aucun allèle rare, et avec, également, une bonne homogénéité morphologique.
 On observe de nombreux génotypes intermédiaires, certains présentant des allèles rares originaux.

On remarque que les deux génotypes fortement répétés dans la collection (voir B) sont des éléments des noyaux principaux.

Enfin, les groupes de combinaison CB et BONOUA sont présents dans chaque région du continent africain, le groupe CB paraissant plus fréquent en Afrique de l'Est qu'en Afrique de l'Ouest, contrairement au groupe BONOUA (Figure 15).

E. PRINCIPAUX FACTEURS LIMITANT LE BRASSAGE GENETIQUE

Chez une espèce cultivée, le maintien d'une structuration de la diversité génétique peut être l'effet du processus de domestication et/ou de phénomènes biologiques. Dans le cas du manioc *M.esculenta*, le premier facteur à considérer est l'existence d'une multiplication par voie végétative. On cherche ici à caractériser deux facteurs supplémentaires qui limitent le brassage génétique.

1°) La sélection dirigée

Le programme de création variétale de l'IITA, au Nigeria, s'appuie sur la principale collection africaine de maniocs (d'origines diverses). Cependant, les sources de résistance à la mosaïque et à la bactériose, qui sont des clones obtenus en Tanzanie par introgression de gènes de *M. glaziovii*, font intervenir une base génétique relativement étroite (voir chapitre I). La collection ORSTOM comprend 4 de ces clones sources, ainsi qu'un échantillon de 7 variétés améliorées de l'IITA, résistantes aux deux maladies. Bien que la généalogie de ces variétés améliorées ne soit pas connue, il est probable qu'elle fasse intervenir des sources de résistances proches de celles qui sont en collection.

La Figure 16 montre que les distances génétiques entre clones sources et variétés améliorées sont faibles. Globalement, il apparaît un certain apparentement entre les variétés améliorées diffusées sur le continent africain.

Par ailleurs, 10 des 11 variétés résistantes présentent le même marqueur d'introgression par *M. glaziovii* (allèle IDHA2), alors que celui-ci est en ségrégation dans les descendances obtenues à partir de ces mêmes variétés (Annexe IV). Si ce locus est effectivement lié à un des gènes de résistance (dans la souche *M. glaziovii*), il pourrait constituer un marqueur intéressant pour la sélection.

2°) <u>Variabilité du taux de réussite des croisements intraspécifiques</u>

Chez le manioc *M. esculenta*, on observe une grande variabilité de la fertilité, depuis des clones non florifères jusqu'à plus de 7 niveaux de floraison en 10 mois, en passant par des stérilités mâles totales ou partielles, et des stérilités femelles (MIEGE & MIEGE, 1954). KAWANO (1980) met en évidence un contrôle génétique du taux de réussite des croisements intraspécifiques, principalement par le parent femelle.

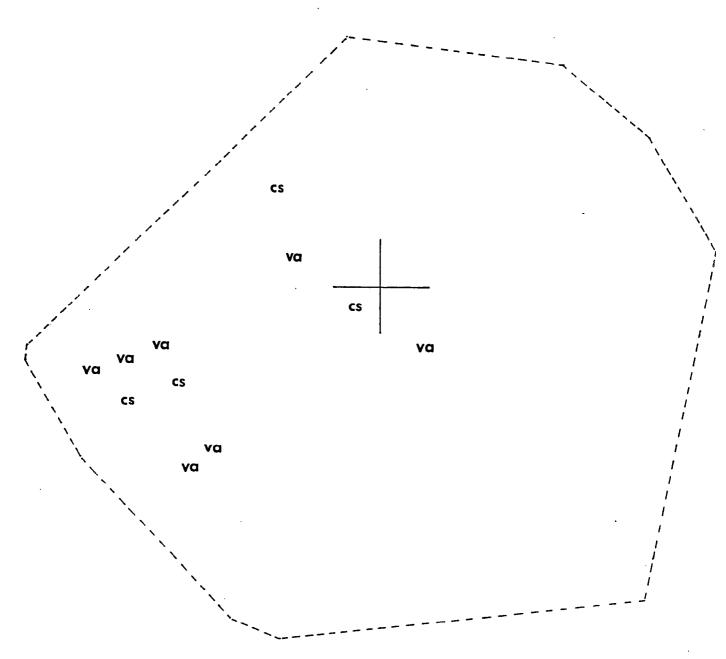


Figure 16: Plan factoriel 1-3 d'une A.F.C. portant sur 20 allèles enzymatiques, projection des clones utilisés comme sources de résistance à la virose (cs) et des variétés améliorées (va).

(----- représente l'enveloppe du nuage de l'ensemble des individus en collection)

femelle	mâle	DATES DE FECONDATION	NOUAISON (F/C)	REMPLISSAGE (G/3F)	
V7	V17	8/86 - 9/86 - 11/86	0,09 - 0,23 - 0,07 * *	0,78 - 0,82 - 0,74	NS
53	V17	8/86 - 9/86 - 11/86	0,05 - 0,15 - 0,20 * *	1,00-0,83-0,89	NS
402	V17	8/86 - 9/86	0,03 - 0,08 *	0,78 - 0,97	*
53	V22	9/85 - 11/86	0,21 - 0,22 NS	0,96 - 0,92	NS
V23	V29	9/85 - 12/85	0,06 - 0,42 * *	0,67 - 0,58	NS
V22	V22	12/85 - 11/86	0,11 - 0,05 NS	<u>0,61 -</u> 0,75	NS

Tableau 18: Variation du taux de réussite des croisements contrôlés suivant la date de fécondation.
C: nombre de croisements (fleurs pollinisées);
F: nombre de fruits;
G: nombre de graines.

MALE	FEMELLE	REMPLISSAGE (G/3F)	X2
1	53	0,93	
V22			* *
	V7	0,7 0	
	53	0,89	
V17			*
	V7	0,79	

Tableau 19: Influence du parent femelle sur le remplissage des fruits.

Pour mesurer ce taux de réussite, exprimé en nombre de plantes hybrides obtenu par fleur pollinisée (< 3), on distinguera trois paramètres (Annexe VI):

- le taux de nouaison (nombre de fruits noués par croisement réalisé, F/C);
- le taux de remplissage des fruits (nombre de graines par ovules dans les fruits noués, G/3F);
 - le taux de germination.

Suivant les croisements, le taux de nouaison varie de 0 à 0,26, le taux de remplissage de 0,61 à 0,96, et le taux de germination de 0 à 0,88, pour une réussite globale de 0 à 0,294 plantes hybrides par fleur pollinisée.

On observe, chez certains croisements, une influence de la date de fécondation sur le taux de nouaison (Tableau 18), avec de moins bons résultats au mois d'Août. De telles variations pourraient être dues à la faible luminosité qui caractérise cette période (voir Annexe IX).

Par contre, le taux de remplissage des fruits est généralement constant qu'elle que soit la date de fécondation (Tableau 18), et le Tableau 19 montre l'influence du génotype femelle sur ce paramètre: la variété 53 donne de meilleurs résultats que la variété V7 avec les mâles V22 et V17. De même, les taux de germination des descendances issues de la variété 53 (0,62 et 0,88, respectivement avec les mâles V22 et V17) sont meilleurs que ceux des descendances issues de V7 (0,57 et 0,49 avec les mêmes mâles).

D'autre part, on observe des effets d'interaction mâle x femelle: les mâles V23 et V13, fertiles avec la femelle 54 (avec des taux de nouaison respectifs de 0,17 et 0,12), n'ont donné aucun fruit avec la variété V22 (pour 59 et 65 fleurs pollinisées) qui a néanmoins pu être autofécondée.

Si la probabilité de réussite d'une hybridation intraspécifique dépend des génotypes impliqués, il n'apparaît pas de différences de comportement entre les groupes enzymatiques définis précédemment, et le taux de réussite global varie de:

- 0,000 à 0,211 pour les combinaisons BONOUA x BONOUA
- 0,032 à 0,294 pour les combinaisons BONOUA x CB
- 0,041 à 0,265 pour les combinaisons CB x CB

CONCLUSION

Une description de 365 échantillons *M. esculenta* a été réalisée sur la base de 16 caractères botaniques et 10 systèmes enzymatiques. Etant donnée l'hétérogénéité des boutures utilisées lors de l'implantation de la collection, les caractères morphologiques quantitatifs n'ont pas été pris en compte pour l'identification des clones. Les 2 catégories de descripteurs utilisées ont sensiblement le même pouvoir discriminant: les 210 "génotypes" supposés définissent ainsi 200 phénotypes morphologiques et 147 phénotypes biochimiques. Les caractères morphologiques font appel à des déterminismes plus ou moins complexes. Le polymorphisme isozymique, gouverné par des systèmes génétiques simples, avec généralement une situation de codominance, permet un accès plus facile au génotype.

On identifie ainsi 20 loci codant pour les protéines enzymatiques, dont 11 sont polymorphes chez *M. esculenta* et regroupent 26 allèles. L'hypothèse de ségrégation disomique proposée pour 3 loci par ZOUNDJIHEKPON & TOURE (1985) est étendue aux 11 loci polymorphes. On détecte 3 cas de distorsion dont 2 font intervenir le même géniteur. Pour 3 systèmes, les zymogrammes sont interprétés par l'existence de gènes à l'état dupliqué:

- pour les PGI, la présence de gènes dupliqués est mentionnée dans les genres *Clarkia* (GOTTLIEB, 1977), *Persea* (GOLDRING *et al.*, 1985), *Malus* (CHEVREAU *et al.*, 1985), et *Solanum* (MARTINEZ ZAPATER & OLIVER, 1985);
- pour les MDH, la même interprétation est proposée dans le genre *Oryza* (SECOND & TROUSLOT, 1980) ainsi que chez *Zea maïs* (GOODMAN *et al.*, 1980a);
- pour les PGD, GOODMAN et al. (1980b) ont supposé l'existence de gènes dupliqués chez Zea maïs, mais dans ce cas seulement 2 gènes sont en jeu, au lieu de 3 chez M. esculenta.

L'origine dupliquée de certains gènes, avec une hérédité disomique, concorde avec l'hypothèse d'une origine allopolyploïde du manioc (MAGOON et al., 1969).

Pour chaque locus, la fréquence d'individus hétérozygotes dans la collection correspond à une situation panmictique. BROWN (1979), dans une revue bibliographique des estimations, a situé l'hétérozygotie moyenne des espèces autogames à H=0,127, et celle des espèces allogames à H=0,288. Le taux moyen d'hétérozygotie estimé dans cette collection, H=0,225, situe donc le manioc parmi les espèces fortement hétérozygotes. Ces résultats confirment les conclusions que KAWANO *et al.* (1978) ont tiré du suivi de 5 descendances, pour des caractères quantitatifs comme le rendement ou l'indice de récolte.

Parmi les facteurs de diversification de *M. esculenta*, espèce à multiplication végétative, la recombinaison génétique joue un rôle important. Dans les systèmes de culture traditionnels africains, le passage régulier par la reproduction sexuée est assuré soit par clonage de jeunes plants issus de germinations spontanées dans les parcelles (celles-ci étant le plus souvent polyclonales), soit par semis direct de graines (JENNINGS, 1963). Cette pratique du renouvellement des têtes de clones permet de répondre au phénomène de dégénerescence clonale, en partie provoqué par la transmission des principaux pathogènes par la bouture (néanmoins, la bactérie *X. manihotis* pv *manihotis* est également transmise par la graine, DANIEL & BOHER, 1985).

Si la reproduction sexuée reste opérante, on met en évidence une variabilité de la fertilité des clones de manioc: dans les croisements intraspécifiques, le taux de nouaison varie suivant les croisements, tandis que le taux de remplissage des fruits et le taux de germination des graines semblent dépendre du génotype femelle. Ces résultats rejoignent ceux de NICHOLS (1947), qui a obtenu des taux de nouaison nuls avec certains croisements; et ceux de BOLHUIS (1967) qui n'a pu obtenir de nouaison supérieure à 10% qu'avec 4 géniteurs. Globalement, on obtient 0,294 plantes hybrides par fleur pollinisée. Ce taux de réussite étant rarement supérieur à 0,300 (CIAT in SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983), il est néanmoins possible d'obtenir plus d'un hybride par fleur pollinisée avec certains géniteurs (JENNINGS, 1963; ZOUNDJIHEKPON, 1986).

Le sous-ensemble des cultivars traditionnels de Côte d'Ivoire, qui représente moins de la moitié des génotypes, renferme toutes les caractéristiques botaniques et tous les allozymes recensés dans la collection. Par ailleurs, les 105 clones étrangers s'intègrent parfaitement au nuage délimité par le pool ivoirien dans les analyses multivariées. On peut alors penser que cette collection reflète assez bien l'organisation de la diversité de *M. esculenta* en Afrique.

Si la variabilité au niveau de chaque locus est répartie à peu près uniformément dans la collection, les analyses multivariées révèlent l'existence d'une structuration de la diversité tant au niveau des caractères morphologiques que biochimiques.

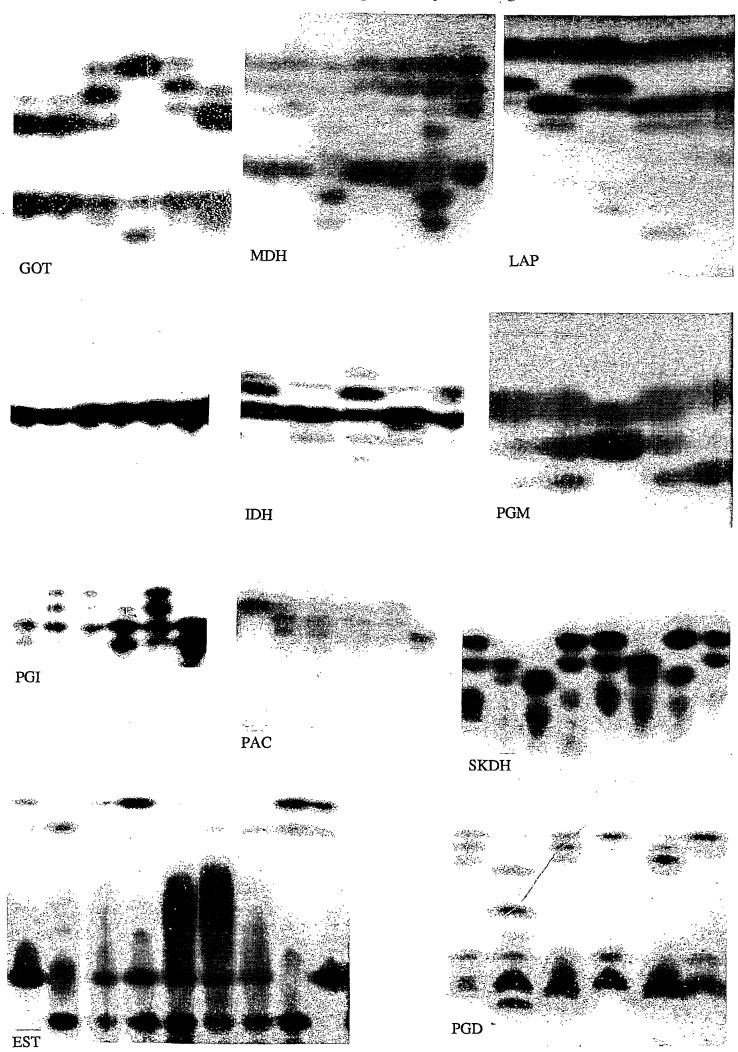
On définit 4 types variétaux sur la base de 8 descripteurs botaniques; différentes situations intermédiaires sont rencontrées. Ces types variétaux sont classés en deux groupes suivant l'importance de la pigmentation anthocyanée sur le pétiole et les nervures du limbe. Les groupes ainsi définis présentent des aptitudes agronomiques différentes.

En calculant les probabilités d'apparentement dans une population naturelle de *Picea abies*, à l'aide de 9 loci enzymatiques, BRUNEL & RODOLPHE (1985) ont montré que tous les allèles ne renferment pas la même information, suivant qu'ils sont fréquents ou rares. Ici, dans une première étape, l'analyse des combinaisons des allèles les plus fréquents différencie deux groupes,

CB et BONOUA, au sein de la collection. Cette structuration est confirmée par la suite lorsque les allèles rares sont inclus dans l'analyse. D'autre part, bien que cette classification ne concorde pas avec la classification morphologique, on met en évidence une distribution non uniforme de certains caractères morphologiques entre les groupes CB et BONOUA. Ces groupes diffèrent également par leurs distributions géographiques. On définit alors plusieurs niveaux d'apparentement des génotypes suivant qu'ils appartiennent, ou non, au même groupe de combinaison d'allèles fréquents, ou qu'ils possèdent, ou non, un ou plusieurs allèles rares en commun. De cette manière, on distingue deux groupes de fort apparentement, entre lesquels figurent de nombreux génotypes recombinés.

Cette diversité est encore incomplètement exploitée par les programmes d'amélioration. Même si les géniteurs sont d'origines diverses, une base génétique étroite des sources de résistance aux maladies semble suffisante pour provoquer l'apparentement entre les variétés sélectionées comme le montre l'étude du polymorphisme enzymatique.

Polymorphisme isozymique révélé après électrophorèse sur gel d'amidon.



CHAPITRE III:

Manihot glaziovii COMME SOURCE DE VARIABILITE POUR L'AMELIORATION DU MANIOC

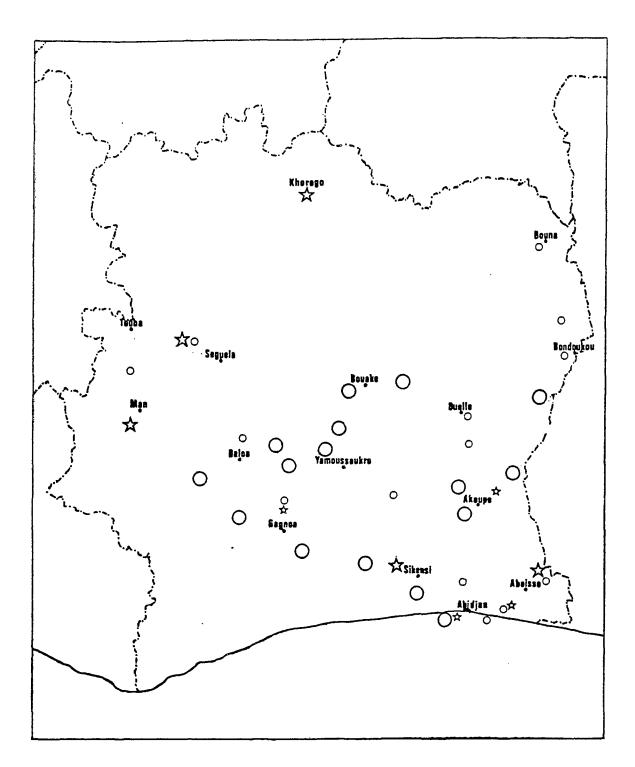


Figure 17: Répartition des échantillons de formes sauvages de *Manihot* collectées en Côte d'Ivoire.

Manihot glaziovii moins de 3 échantillons plus de 3 échantillons moins de 3 échantillons plus de 3 échantillons plus de 3 échantillons

A. MATERIEL ET METHODES

1°) Le matériel végétal

1.1. la collecte de M. glaziovii en Côte d'Ivoire

1.1.1. Déroulement des prospections

Six missions de prospection ont été réalisées de Juillet à Septembre 1985, et en Avril 1986 (LEFEVRE & KOUAKOU, 1987). L'origine des échantillons est indiquée sur la Figure 17. Compte tenu des données bibliographiques relatives à l'introduction de l'espèce, et d'information recueillies auprès de M. AKE ASSI, M. glaziovii est recherché dans les zones perturbées, à proximité des villages actuellement ou récemment habités.

Les échantillons sont constitués de rameaux aoûtés de 1 à 3 mètres de longueur, et, le cas échéant, de graines. Durant le trajet, qui n'excède pas quatre jours, les rameaux sont recouverts d'une toile plastique afin de limiter leur dessèchement.

1.1.2. Mise en collection

La collection établie se compose de 109 échantillons. Cent trois échantillons ont été prélevés en Côte d'Ivoire, 3 sont originaires du Togo, et 3 de Guinée Conakry (Annexe VII).

A l'issue des prospections, les rameaux sont découpés en boutures d'au moins 3 nœuds. Celles-ci sont mises en pot, plantées verticalement dans de la terre stérile, puis repiquées en plein champ après l'apparition de la 4° feuille. Lorsque M. glaziovii est utilisé à des fins domestiques, une des méthodes traditionnelles de multiplication consiste à bouturer des rameaux longs de 1 à 1,50 mètre, enfouis verticalement aux deux tiers de leur longueur. Cette technique, utilisée pour les échantillons collectés en Avril 1986, donne des taux de reprise sensiblement meilleurs que la méthode précédente.

Les pertes survenues lors du bouturage (36% des échantillons n'ont pu être maintenus en collection) peuvent être en partie attribuées à un échauffement des rameaux durant le transport. Par ailleurs, on observe une grande diversité des comportements, et la mauvaise reprise de certains échantillons (en particulier chez *M. glaziovii sensu stricto*) est améliorée par l'emploi d'hormones rhizogènes de type acide indobutyrique ("boutormone", diffusé par RHODIC S.A.).

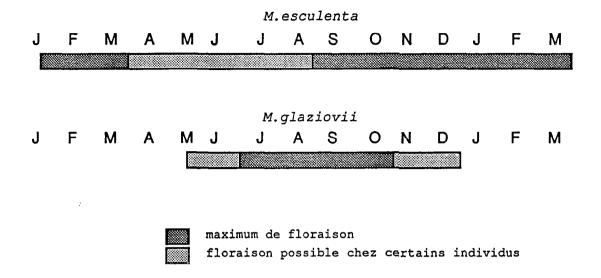


Figure 18: Périodes de floraison chez Manihot esculenta et Manihot glaziovii sur la station d'Adiopodoumé.

FEMELL	E -	MALE	EFFECTIF
M. esculenta	402	M. glaziovii G113B	10
M. esculenta	V7	<i>M. glaziovii G1</i> 13B	1
hybride spontan	é H57	hybride spontané H69	4

Tableau 20: Origine des hybrides interspécifiques issus de fécondations contrôlées.

Les graines sont stérilisées à l'hypochlorite de Calcium, puis séchées à 45°C pendant 4 jours suivant la méthode décrite au chapitre II. Elles sont ensuite mises à germer à température ambiante dans de la terre stérile. Le taux de germination est généralement inférieur à 25%, le temps de germination variant de 2 semaines à plusieurs mois.

1.2. Les descendances

1.2.1. Les descendances issues de fécondations contrôlées

La Figure 18 montre un léger décalage entre les périodes de floraison de *M. glaziovii* et de *M. esculenta*. Néanmoins, la grande variabilité de l'espèce cultivée permet de trouver des clones ayant une floraison synchrone avec l'espèce sauvage. D'autre part, chez les jeunes pieds de *M. glaziovii* de moins de 2 ans la croissance végétative peut se poursuivre durant la première saison sèche, et la floraison n'est alors pas totalement interrompue. Pour réaliser des hybridations, on peut bouturer les géniteurs *M. glaziovii* vers le mois de Juin, afin de reculer la période de floraison. Les hybrides interspécifiques ont une floraison quasi continue de type *M. esculenta*. Les croisements avec *M. glaziovii* ont été réalisés de Juin à Octobre 1986, et, avec les formes hybrides, de Mars à Juillet 1986.

Suivant les méthodes décrites au chapitre II, on a obtenu 15 plantes hybrides interspécifiques, réparties en 11 descendants F1 *M. esculenta* x *M. glaziovii* (*M. esculenta* est pris comme parent femelle compte tenu des meilleurs résultats observés dans ce sens par BOLHUIS, 1967, et JENNINGS, 1963) et 4 intercroisements entre formes hybrides (Tableau 20). Les essais de rétrocroisements des formes hybrides sur le manioc cultivé n'ont donné aucune descendance.

1.2.2. Les descendances en fécondation libre

Afin d'augmenter les effectifs des descendants d'intercroisement entre hybrides interspécifiques, des graines ont été récoltées sur 2 hybrides en collection, laissés en pollinisation libre. Les échantillons de *M. glaziovii* n'ayant pas commencé à fleurir au moment de la récolte, les pollinisateurs peuvent être soit d'autres hybrides, soit des clones de manioc *M. esculenta*. Pour 19 de ces descendants, l'examen des profils enzymatiques indique avec certitude un pollinisateur hybride: ces plantes présentent des loci à l'état homozygote *M. glaziovii*, ou des allèles "sauvages" que ne possède pas le pied mère. On dispose donc de 23 descendants d'intercroisement, dont 4 issus de fécondation contrôlée, et 19 de fécondation libre.

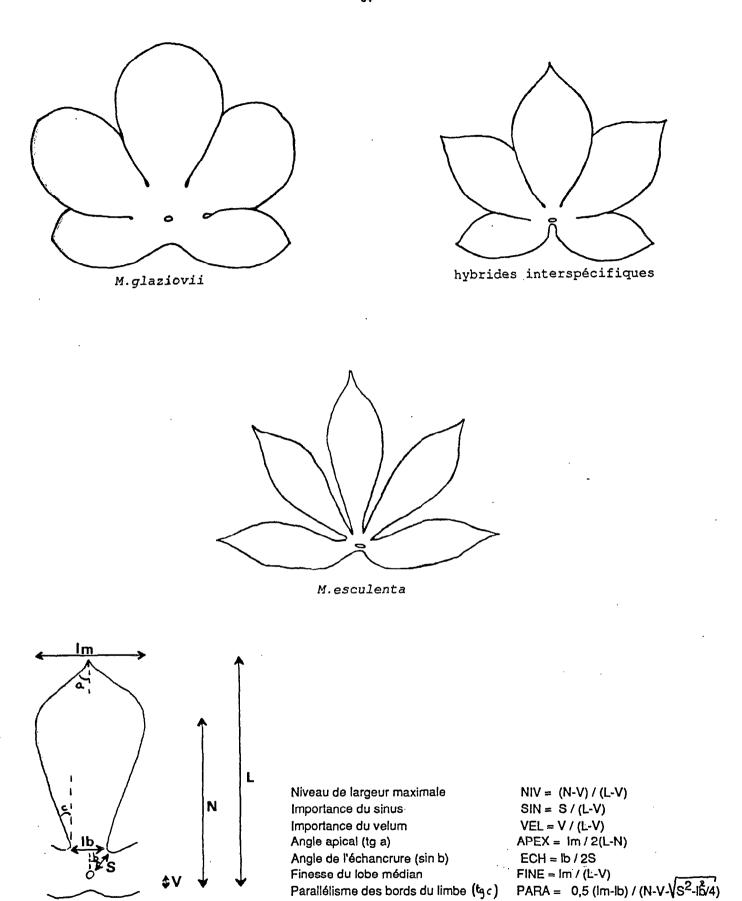


Figure 19: Les descripteurs quantitatifs du limbe foliaire.

2°) Méthodes d'étude des relations entre M. esculenta et M. glaziovii

Après un recensement des différents types morphologiques et enzymatiques rencontrés dans la collection de formes sauvages, l'étude de l'organisation du complexe porte sur des échantillons représentatifs de la variabilité de chacune des espèces.

2.1. Les descripteurs morphologiques

La collection de formes sauvages est décrite d'après la liste des descripteurs qualitatifs des parties aériennes déjà utilisée chez *M. esculenta* (Tableau 8).

Les observations faites en prospection ont montré que la forme du limbe permettait de distinguer nettement *M. glaziovii* des hybrides interspécifiques (LEFEVRE & KOUAKOU, 1987). C'est un des principaux caractères intervenant dans la classification taxonomique des espèces du genre *Manihot* (ROGERS & APPAN, 1973). Une description quantitative de ce polymorphisme est réalisée sur un échantillon de 30 génotypes (Annexe VIII) répartis en:

- 10 clones M. esculenta (types à lobes lancéolés, linéaires, elliptiques, et irréguliers);
- 10 génotypes hybrides;
- 10 génotypes M. glaziovii (provenant de 10 échantillons).

Au cours de la croissance, on note une diminution de la taille des feuilles. Celle-ci tend à se stabiliser vers 6 à 8 mois chez *M. esculenta* (COCK et al., 1979). La taille définitive est apparemment atteinte plus tardivement chez *M. glaziovii*. Les mesures sont réalisées sur 5 feuilles saines, épanouies, pour chaque génotype, à 8 mois pour *M. esculenta* et les formes hybrides, et sur des arbres adultes observés lors des prospections pour *M. glaziovii*. Afin de limiter la variation due à un effet "taille de la feuille", on utilise 7 descripteurs correspondant à des rapports de longueur (Figure 19).

2.2. Les marqueurs enzymatiques

On révèle les mêmes systèmes enzymatiques que chez le manioc cultivé, suivant les techniques décrites au chapitre II. La diversité enzymatique est étudiée sur un échantillon de 60 génotypes (Annexe VIII) répartis en:

- 25 clones *M. esculenta* (dispersés sur l'ensemble du nuage défini sur la Figure 12, ils représentent les groupes BONOUA et CB, ainsi que les différents allèles rares existants dans la collection);
- 10 génotypes hybrides spontanés (soit l'ensemble des génotypes isozymiques distingués);
- 25 génotypes M. glaziovii (issus de 15 échantillons de graines).

M. esculenta	<i>M. esculenta</i> introgressé	Hybrides spontanés
1	402	H1
31	V7	нз
316	V7B	H29
379	V13	H35
147	V14	H57
V22	V17	H69
V28		H71
V48		H80
'		H82
į		H109

Tableau 21: Echantillons étudiés lors de l'essai d'évaluation agronomique.

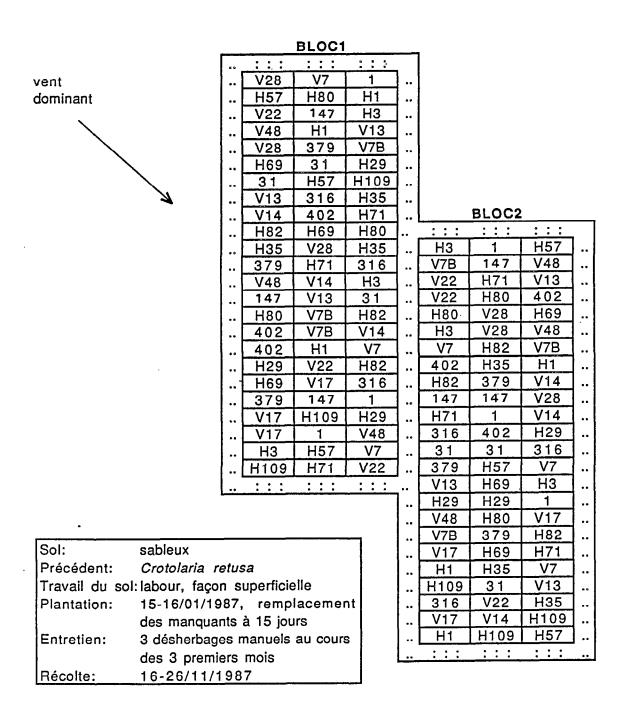


Figure 20: Dispositif expérimental et conduite de l'essai d'évaluation agronomique.

Les déterminismes génétiques proposés chez *M. esculenta* permettent d'interpréter les différents zymogrammes observés dans la collection et dans les descendances (Annexe IV). Ces hypothèses demandent cependant à être confirmées sur des descendances plus importantes.

Chez M. glaziovii, l'analyse de la diversité repose sur 19 des 20 loci présumés: les isozymes éventuellement présents au locus MDHB ne pouvant être distingués de la bande hétérodimère entre MDHA4 et MDHC1, le polymorphisme à ce locus n'est pas étudié (Annexe III).

2.3. Les observations cytologiques

La fertilité pollinique des hybrides interspécifiques est estimée d'après le test de colorabilité à l'iode généralement utilisé chez le manioc (MAGOON et al., 1970; JOS & NAIR, 1979).

Pour deux hybrides stériles, on observe le comportement méiotique aux stades métaphase I et début d'anaphase I dans les cellules mères des grains de pollen. Les boutons floraux des fleurs mâles sont prélevés entre 8h30 et 10h30 du matin suivant les indications de MIEGE & MIEGE (1954). Les préparations cytologiques sont réalisées suivant la méthode décrite par SWAMINATHAN et al. (1954):

- fixation des anthères dans de l'alcool propionique (3-1), saturé en acétate ferrique, pendant 24h à 4°C;
- montage dans du carmin propionique.

3°) Mise en place d'un essai d'évaluation agronomique des formes introgressives

3.1. Objectifs

L'évaluation agronomique est réalisée suivant deux objectifs:

- juger l'acquisition des caractères de domestication au cours des différentes étapes du processus introgressif;
- estimer la valeur agronomique des formes hybrides, tant du point de vue phytosanitaire, que de la vigueur, ou des qualités organoleptiques des racines.

Cet essai est réalisé conjointement avec le Laboratoire de Phytovirologie pour l'étude de la résistance à la mosaïque africaine du manioc.

CARACTERE Poids de la	METHODE DE MESURE	NOMBRE 1 par pied	DATES avant	CODES
bouture		(g)	remplacement	-
		(8)	,	
Reprise des boutures	Nombre de jours avant reprise du 3° pied	1 par ligne	entre 6 et 20 JAP	N3
Hauteur	Verticale de l'apex le plus haut	1 par pied (cm)	tous les mois de 26 à 181 JAP	H1 à H6
Diamètre à la base		1 par pied (cm)	tous les mois	D1 à D6
Nombre total d'apex		1 par pied	13 mesures entre 26 et 153 JAP	AP1 à AP13
Emission foliaire	baguage de la dernière feuille, comptage des feuilles émises depuis la bague précédente	1 apex par pied	12 mesures entre 26 et 190 JAP	EF1 à EF12
Rang de ramification	seules comptent les ramifications dues à la floraison	1 par pied	à 5 mois et à la récolte	RG5 RG10
Nb d'apex par ramification	comptage sur les ramification de rang 2	moyenne sur chaque pied	réalisé juste avant récolte	APR
Gravité des symptômes de la mosaïque	baguage de la dernière feuille, moyenne des notes 0-5 attribuées aux feuilles émises auparavant	1 apex par pied	60, 90 et 120 JAP	IGS1 IGS2 IGS3
Nombre de mouches blanches par apex	comptage sur la face inférieure des 5 dernières feuilles	1 apex par pied	13 mesures entre 26 et 153 JAP	M1 à M13
Sensibilité à la bactériose	notation des symptômes par une note 0-5	1 par pied	203, 216 et 243 JAP	BAC1 à BAC3
Sensibilité aux cochenilles	notation des symptômes par une note 0-5	1 par pied	203, 216 et 243 JAP	COC1 à COC3
Poids frais total	en distinguant feuilles, bois aoûtés, et racines	1 par pied (kg)	à 10 mois	PTF, PTB,PTT
Nb de racines tubérisées	en distinguant racines nodales et basales	1 par pied	à 10 mois	TNO TBA
Teneur en matière sèche	après séchage à 105°C (feuilles,bois,racines)	1 par pied	à 10 mois	MSF, MSB,MST
Teneur en amidon	dosage par méthode enzymatique	1 par ligne (% MS)	à 10 mois	AMID
Teneur en acide cyanhydrique	sur le cylindre central d'une racine	1 par ligne bloc 1 (ppm)	à 10 mois	HCN

Tableau 22: Caractères mesurés lors de l'essai d'évaluation agronomique. (JAP: jours après plantation)

3.2. Protocole expérimental

L'essai clonal mis en place fait intervenir (Tableau 21):

- 8 clones M. esculenta divers;
- 6 clones M. esculenta introgressés par M. glaziovii;
- 10 génotypes hybrides interspécifiques.

Remarque: A la suite d'une confusion survenue dans le parc à bois où les boutures ont été prélevées, la variété V7 est répétée 2 fois dans l'échantillon. Cette erreur ayant été décelée trop tardivement pour procéder à un remplacement, et afin de conserver un modèle équilibré dans l'analyse des résultats, les 2 exemplaires (V7 et V7B) seront traités comme 2 clones distincts et utilisés comme témoins.

L'essai est conduit sur 10 mois, de Janvier à Novembre 1987. Les données climatiques correspondantes figurent en Annexe IX. Le dispositif est en blocs complets équilibrés, entourés par 2 lignes de bordure (Figure 20). Les deux blocs se succèdent suivant l'orientation du vent dominant, afin de contrôler un éventuel gradient de la population d'aleurodes, vecteurs de la mosaïque. Dans chaque bloc, chaque clone est représenté par 3 lignes randomisées de 5 plantes. L'essai est réalisé à faible densité (2m x 2,50m) afin de limiter les effets de compétition.

3.3. Les caractères observés

Les variables mesurées sont décrites au Tableau 22.

3.3.1. Le syndrôme de domestication

Pour passer de l'espèce M. glaziovii à un manioc cultivé, 3 caractères doivent être acquis en priorité: - une bonne reprise au bouturage d'axes caulinaires;

- un port arbustif;
- la capacité d'accumuler de larges quantités d'amidon dans les racines.

Après avoir précisé les comportements observés chez les hybrides spontanés, on définira différents niveaux d'introgression, des hybrides les plus "sauvages" à M. esculenta sensu stricto.

3.3.2. Le comportement phytosanitaire

Lors d'une étude épidémiologique de la mosaïque africaine du manioc, portant sur 28 variétés de *M. esculenta*, FARGETTE (1985) met en évidence deux axes de résistance indépendants:

- la résistance à la maladie, figurée par un lien étroit entre cinétique de contamination au champ, intensité des symptômes, teneur en virus dans les feuilles, et sensibilité à l'inoculation;
- la résistance au vecteur, *Bemisia tabaci*, qui tient compte à la fois des relations de préférence et d'antibiose entre la plante et l'insecte.

La station d'Adiopodoumé se caractérise par une très forte pression de virose, et toutes les boutures utilisées dans cet essai ont été prélevées sur des plantes en contact avec le virus. Pour cette raison, on ne cherchera pas à étudier la cinétique de contamination. Le premier facteur de résistance est estimé d'après un indice de gravité des symptômes, le deuxième facteur est mesuré d'après la population d'aleurodes hébergée.

Les niveaux de résistance à la bactériose vasculaire (Xanthomonas campestris pv manihotis), et à la cochenille farineuse (Phenacoccus manihoti) sont évalués par une appréciation globale des symptômes sur la plante:

- pour la bactériose 0: absence de symptômes
 - 1: taches angulaires sur les feuilles
 - 2: exudats sur les tiges ou les pétioles des feuilles
 - 3: flétrissement
 - 4: mort d'une à quelques tiges
 - 5: mort du plant
- pour la cochenille 0: absence de cochenilles
 - 1: présence de cochenilles, sans symptômes
 - 2: léger enroulement de l'apex
 - 3: forte réduction des entrenoeuds
 - 4: dessèchement d'un à quelques apex
 - 5: mort du plant

3.3.3. Les paramètres de vigueur et de croissance

COCK et al. (1979) distinguent deux facteurs dans l'élaboration du rendement chez le manioc: la production de matière sèche, et la distribution de la matière sèche entre les racines et les parties aériennes. Ces auteurs proposent un modèle de croissance dont le principal paramètre est l'indice foliaire, rapport de la surface photosynthétisante à la surface au sol.

Après avoir estimé la production de chaque génotype (racines, bois, et feuilles), on étudiera ses relations avec différentes caractéristiques variétales de la croissance ayant une influence sur l'indice foliaire.

3.3.4. Les critères de qualité des racines

Le dosage de l'amidon, par colorimétrie après digestion enzymatique, et le dosage de l'acide cyanhydrique, par spectrophotométrie, sont réalisés par le Laboratoire Central d'Analyse du centre d'Adiopodoumé. Ces mesures sont réalisées pour un nombre restreint de pieds (respectivement 6 et 3 plantes par génotype).

4°) Les méthodes statistiques

L'étude de la diversité utilise les méthodes d'analyse des données décrites au chapitre II.

Les résultats de l'évaluation agronomique sont traitées par analyse de la variance suivant un modèle fixe, croisé, équilibré (les calculs sont faits d'après les valeurs moyennes de chaque ligne):

facteur	type	<u>dd1</u>
bloc	fixe	1
génotype	fixe	23
bloc x génotype		23
résiduelle		96
TOTALE		143

Lorsque des différences sont mises en évidence, la comparaison multiple des moyennes est réalisée suivant le test de Newmann et Keuls (α =0,01).

On compare les moyennes des différents niveaux d'introgression, 2 à 2, par un test de Mann-Whitney. Puisque l'on se situe dans un modèle à effets fixes, les résultats de ces comparaisons ne sont pas extrapolés hors de l'échantillon étudié, ils sont simplement considérés comme l'expression d'une situation possible.

Les modèles de régression linéaire sont testés suivant le critère des moindres carrés. Le coefficient de détermination, carré du coefficient de corrélation, est utilisé comme indicateur de la part de variation de la variable Y expliquée par la variable X.

Afin de caractériser les niveaux de résistance au vecteur de la mosaïque, on cherche à comparer les profils d'évolution de la population d'aleurodes, au cours du temps, chez les différents génotypes. Cette étude fait appel aux méthodes d'analyse des séries chronologiques. Le lissage, c'est-à-dire la séparation d'une tendance et d'un bruit de fond, est obtenu par régression polynômiale sur une fenêtre mobile.

	M. esculenta	HYBRIDES SPONTANES	M.glaziovii
Port	arbustif	arbustif à arborescent	arborescent
Production de latex	modérée	modérée	abondante
Ailettes de la capsule	très développées	peu développées	absentes
Velum foliaire	petit ou absent	moyen	grand
Racines tubérisées	présentes	présentes ou absentes	absentes
Proéminence des noeuds	forte	moyenne	faible
Forme des lobes du limbe foliaire	linéaire, lancéolée elliptique ou irrégulière	lancéolée ou elliptique	arrondie

Tableau 23: Caractéristiques morphologiques des formes sauvages de Manihot de Côte d'Ivoire.

B. MISE EN EVIDENCE ET CARACTERISATION DES FLUX GENIQUES ENTRE M. esculenta ET M. glaziovii

1°) Diversité des formes sauvages en Côte d'Ivoire

1.1.Les formes sauvages rencontrées

1.1.1. Existence d'hybrides interspécifiques spontanés

En Côte d'Ivoire, on rencontre deux types morphologiques regroupés sous l'appellation traditionnelle de "maniocs arborescents" ou "faux maniocs". Le premier type répond à la définition de M. glaziovii donnée par ROGERS & APPAN (1973). Les autres échantillons présentent des caractéristiques intermédiaires entre M. esculenta et M. glaziovii et ne correspondent à aucune description d'espèce donnée par les taxonomistes: ces échantillons sont interprétés comme des formes hybrides spontanées entre les deux espèces (Tableau 23)

Aucune autre espèce du genre Manihot n'a été rencontrée lors de ces prospections.

1.1.2. Les écotypes

Les formes sauvages de *Manihot* sont répandues aussi bien en zone de savane qu'en forêt, toujours en milieu perturbé.

Les anciennes plantations de *M. glaziovii*, maintenant abandonnées, forment des populations plus ou moins importantes (de quelques arbres à Séguéla, à plusieurs hectares sur le site de Sikensi). Ces populations sont composées d'arbres d'âges différents, accompagnés de nombreuses plantules issues de germination. Plus rarement, *M. glaziovii* est planté à des fins utilitaires (arbre d'ombrage dans une école à Khorogo)

A l'opposé, la plupart des échantillons hybrides ont été prélevés sur des haies, dans des cours ou sur des places publiques; seuls quelques hybrides ont été trouvés isolés à l'écart des habitations. Les hybrides sont généralement multipliés par boutures de tiges, certains clones étant commercialisés chez les horticulteurs. On distingue 3 modèles de répartition des types morphologiques hybrides:

- une répartition nationale, un même type étant rencontré dans toutes les régions prospectées
- une répartition régionale, lorsqu'un même type est rencontré en plusieurs sites d'une même région (cas d'échantillons collectés à Man et à Séguéla);
- une localisation ponctuelle, cas des types morphologiques observés en un seul exemplaire.

		M. esculenta	M. glaziovii
Diversité morphologique	 -nombre de caractères polymorphes -nombre de modalités par 	11	5
	caractère polymorphe	2,91	2,20
Diversité	-nombre de loci		
isozymique	polymorphes -nombre d'allèles par	11	11
	locus polymorphe -hétérozygotie estimée	2,36	2,82
}	н	0,225 +	0,252 *+
	V(H)	0,0023	0,0027

^{*:} estimé sur 19 loci et 25 génotypes

Tableau 24: Importance du polymorphisme chez Manihot esculenta et Manihot glaziovii.

^{+:} la différence entre les 2 valeurs est significative au seuil 0,05 (t=1,686 à 37 ddl)

On remarque des situations de contact très étroit entre *M. esculenta* et les formes sauvages, ces dernières pouvant intervenir dans la constitution de haies destinées à protéger des parcelles potagères.

1.2. Diversité morpho-physiologique

1.2.1. Polymorphisme comparé de M. esculenta et M. glaziovii

Sur les 11 descripteurs polymorphes de l'appareil aérien de *M. esculenta*, seuls 5 restent polymorphes chez *M. glaziovii*:

- la coloration de la jeune tige (vert clair ou vert foncé);
- la coloration de la tige aoûtée (gris ou noir);
- le port (ramifié à érigé);
- la coloration du limbe des feuilles âgées (vert intense à foncé);
- la coloration du pétiole (partiellement vert à pourpre).

En particulier, on n'observe pas de pigmentation anthocyanée des jeunes feuilles ou des nervures, ni de pilosité du limbe ou du pétiole.

En outre, le Tableau 24 montre que, pour ces marqueurs, on distingue moins de modalités par caractère polymorphe chez M. glaziovii que chez l'espèce cultivée.

Le dosage qualitatif de l'acide cyanhydrique, réalisé sur l'ensemble des échantillons "sauvages" en collection, révèle une forte teneur aussi bien dans les jeunes feuilles que dans les vieilles feuilles: la note 3, correspondant aux cultivars de manioc les plus toxiques (voir chapitre II), est systématiquement attribuée.

1.2.2. Etude de la forme du limbe des feuilles

Pour chacune des 7 mesures quantitatives réalisées, les domaines de variation de *M.esculenta* et *M. glaziovii* sont disjoints, et les formes hybrides présentent des valeurs intermédiaires (Figure 21).

Une analyse en composantes principales fait ressortir un axe de différenciation entre les deux espèces qui représente 88% de l'inertie totale. L'analyse de la variance à un facteur (l'espèce) montre que les axes 2, 3, et 4, soit 11% de l'inertie, n'expriment que des variations intraspécifiques. Les formes hybrides spontanées, projetées en points supplémentaires sur le plan principal 1-2, occupent toute la gamme de variabilité intermédiaire entre les domaines de *M.esculenta* et *M. glaziovii* (Figure 22).

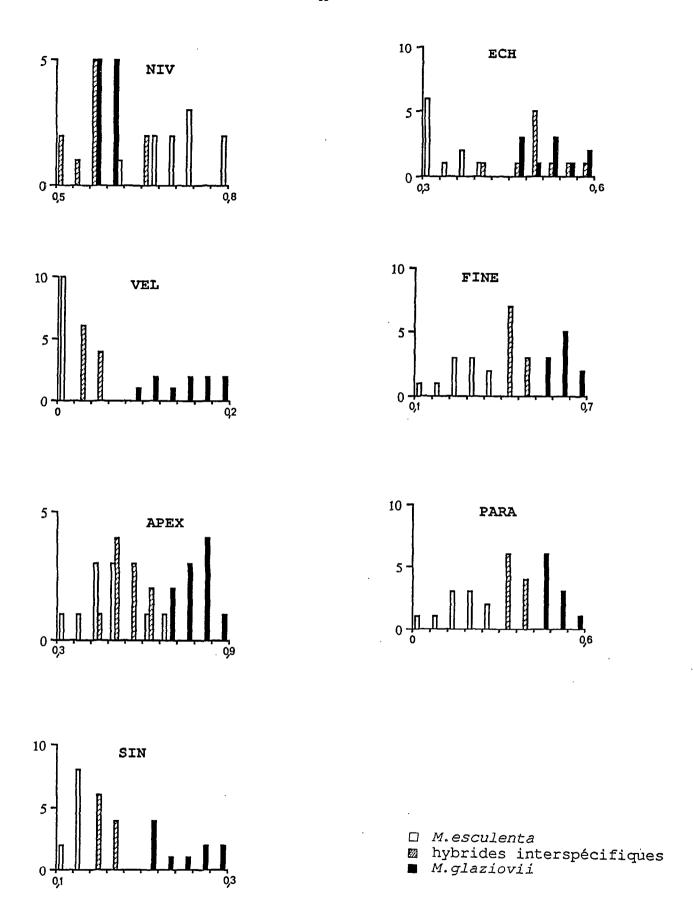


Figure 21: Distribution des variables décrivant la forme du limbe foliaire chez Manihot esculenta, Manihot glaziovii et les formes hybrides spontanées.

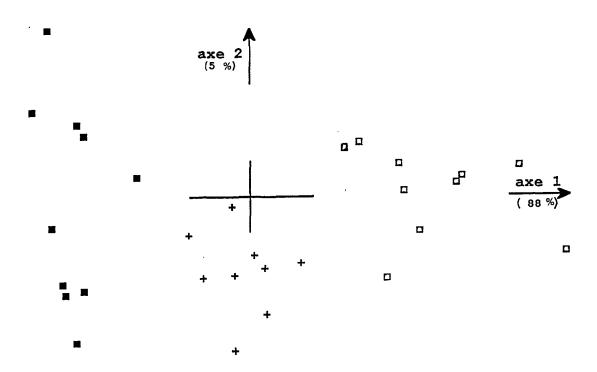


Figure 22: Plan factoriel 1-2 d'une A.C.P. portant sur les descripteurs de la forme du limbe foliaire chez Manihot esculenta (a) et Manihot glaziovii (a), projection des hybrides interspécifiques spontanés en points supplémentaires (+).

	NIV	SIN	VEL.	APEX	ECH	FINE	PARA
NIV		0,549	-0,602	NS	-0,622	NS	NS.
SIN	NS		-0,673	NS	-0,7	NS	NS
VEL.	NS	NS		-0,606	0,59	NS	0,576
APEX	l NS	0.719	NS		NS	0,954	0,916
ECH	NS	NS	NS	NS		NS	NS
FINE	-0,708	0,758	NS	0,874	NS		0,923
PARA	-0,801	0,759	NS	0,787	NS	0,986	

Tableau 25: Matrice des corrélations entre les descripteurs de la forme du limbe chez Manihot esculenta et Manihot glaziovii, respectivement au-dessus et en-dessous de la première diagonale. (NS: corrélation non significative)

		SOTB			1		;	SKDH	ŀ	MDHA					
1	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	_1_	2	3	4
100	100	0	0	0	0	16	45	30	8	0	0	53	8	39	0
100	0	8	*	88	4	0	0	0	4	80	16	0	0	0	100
1001	-										101				-
MDHB MDHC			IDHA			IDHB			PGDA			PGDB			
-	100	MDHB N	100 0 8 MDHB MDHC	100 0 8 * MDHB MDHC 1	100 0 8 * 88 MDHB MDHC IDHA	100 100 0 0 0 0 100 0 8 * 88 4 MDHB MDHC IDHA	100 100 0 0 0 0 16 100 0 8 * 88 4 0 MDHB MDHC IDHA IDHB	100 100 0 0 0 0 16 45 100 0 8 * 88 4 0 0 MDHB MDHC IDHA IDHB	100 100 0 0 0 0 16 45 30 100 0 8 * 88 4 0 0 0	100 100 0 0 0 0 16 45 30 8 100 0 8 * 88 4 0 0 0 4	100 100 0 0 0 0 16 45 30 8 0 100 0 8 * 88 4 0 0 0 4 80 MDHB MDHC IDHA IDHB PGDA	100 100 0 0 0 0 16 45 30 8 0 0 100 0 8 * 88 4 0 0 0 4 80 16 MDHB MDHC IDHA IDHB PGDA	100 100 0 0 0 0 16 45 30 8 0 0 53 100 0 8 * 88 4 0 0 0 4 80 16 0 MDHB MDHC IDHA IDHB PGDA	100 100 0 0 0 0 16 45 30 8 0 0 53 8 100 0 8 * 88 4 0 0 0 4 80 16 0 0 MDHB MDHC IDHA IDHB PGDA I	100 100 0 0 0 0 16 45 30 8 0 0 53 8 39 100 0 8 * 88 4 0 0 0 4 80 16 0 0 0 MDHB MDHC IDHA IDHB PGDA PGDB

		1	IDHA		1	IIDHR [PGDA	•		PGDB			
	0 _ :	1 1	11_	2	3	0	1	0	1	2	3	4	1	2	3	4
M.esculenta	92 8	100	1.00	0	0	66	34	47	48	5	0	0	21	79	0	0
M.glaziovii	? 1	100	0	72	28	0	100	0	0	50	46	4	0	14	8	78

	PACA	PACB			ESTA			ESTC			PGIA		PGIC				
	1	_ 1	2	3	1	2	3	4	1	_ 2	3	1	2	1	2_	3	4
M.esculenta	100	55	45	0	100	0	0	0	57	43	0	100	0	0	100	0	0
M.glaziovii	100	16	16	68	0	98	*	2	28	36	36	0	100	_36	42	22	*

]	PGIB			PGMA		PGMB		LAPA				
	1	2	3	1	2	1	2	1	2	3	4	5
M.esculenta	39	61	0	90	10	100	0	92	0	8	0	0
M.glaziovii	0	30	70	0	100	0	100	0	10	2	54	34

Tableau 26: Fréquences alléliques observées au sein des collections de Manihot esculenta et Manihot glaziovii (x 100).
*: allèles observés uniquement chez les formes hybrides interspécifiques spontanées;

^{?:} polymorphime non décelable chez Manihot glaziovii.

L'importance du premier axe indique qu'en ce qui concerne la morphogénèse du limbe, il n'existe qu'un seul facteur de différenciation entre les deux espèces. Cela se traduit sur les corrélations entre les variables: sur l'ensemble du pool toutes les variables sont étroitement corrélées, alors que la variabilité infraspécifique fait intervenir des corrélations différentes chez les deux espèces (Tableau 25). Une analyse discriminante montre que la différenciation morphogénétique entre *M. esculenta* et *M. glaziovii* est entièrement décrite par la variable VEL (100% de bien classés).

Remarque: Pour certains génotypes M. glaziovii ou hybrides, le limbe des premières feuilles développées peut présenter une forte échancrure. Ce caractère disparaît systématiquement après l'apparition de la 10° feuille environ. Cette échancrure, non observée sur les plants issus de graines, peut apparaître à la suite du bouturage. Ce caractère existe, de façon plus ou moins stable, chez d'autres espèces du genre Manihot (ROGERS & APPAN, 1973).

1.3. Diversité isozymique

1.3.1. Polymorphisme comparé de M. esculenta et M. glaziovii

Alors que sa variabilité morphologique semble restreinte, l'espèce M. glaziovii se caractérise par une forte diversité enzymatique, avec un plus grand nombre d'allèles par locus polymorphe, et une hétérozygotie estimée plus élevée que chez M. esculenta (Tableau 24): H=0,252 (V(H)=0,0027).

Les zymogrammes observés suggèrent une origine dupliquée des gènes codant pour les PGI et les PGD, comme chez *M. esculenta* (Annexe III). Pour les MDH, la présence ou l'absence d'hétérodimère entre MDHA et MDHC étant masquée par la bande MDHB1, on ne peut conclure sur l'existence d'interactions entre ces loci.

Il existe des allèles communs à *M. esculenta* et *M. glaziovii* dans 10 des loci polymorphes chez l'une ou l'autre des espèces (Tableau 26). On distingue 3 situations:

- l'allèle en commun est fréquent (>10%) chez les deux espèces (PACB1, PACB2, ESTC1, ESTC2, PGIC2, PGIB2, PGDB2, IDHB1, PGMA2);
- l'allèle en commun est fréquent chez M. glaziovii et rare chez M. esculenta (PGDA2);
- l'allèle en commun est plutôt rare chez les deux espèces (SKDHA4, LAPA3).

Certains allèles, rencontrés uniquement chez *M. glaziovii* et chez les variétés *M. esculenta* introgressées (de généalogie connue) ou supposées telles, sont considérés comme spécifiques de l'espèce sauvage et utilisés comme marqueurs d'introgression (IDHA2, GOTB2, PGDB3).

	GOTB		SKDHA		IDHA		PGDB		PACB		ESTA	
	hmz	htz_	hmz	htz	hmz	htz	hmz	htz	hmz	htz	hmz	htz
observés	19	6	19	6	19	6	18	7	14	11	24	1
attendus	19,6	5,4	16,7	8,3	14,9	10,1	15,9	9,1	12,8	12,2	24	1
X2	N	s	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S

		ESTC		PGDA		PGIC		PGIB		LAPA	
		hmz	htz								
	ervés		12		7	20		20	5	17	8
atte	ndus	8,4	16,6	11,6	13,4	8,9	16,1	14,5	10,5	10,4	14,6
	X2	N	S _	*	*	*	*		*	*	*

Tableau 27: Taux d'hétérozygotie observés sur un échantillon de 25 génotypes de *Manihot glaziovii* de Côte d'Ivoire, et taux attendus sous l'hypothèse de panmixie. hmz: nombre de génotypes homozygotes; htz: nombre de génotypes hétérozygotes.

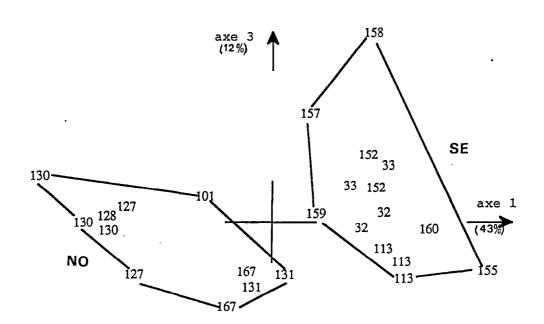


Figure 23: Plan factoriel 1-3 d'une A.F.C. portant sur 29 allèles chez *Manihot glaziovii*; séparation des échantillons du Sud-Est (SE) de ceux du Nord et de l'Ouest (NO) de la Côte d'Ivoire.

(chaque génotype est représenté par le n° de l'échantillon prospecté correspondant)

1.3.2. Organisation de la diversité chez M. glaziovii

Contrairement à ce que l'on observe dans la collection de maniocs cultivés, la collection de *M. glaziovii sensu stricto* présente un écart à la panmixie significatif pour 4 des 11 loci polymorphes (Tableau 27). Cet écart est dû à un déficit en génotypes hétérozygotes et reflète une structuration de la diversité dans cette collection.

L'étude des combinaisons alléliques, réalisée par analyse factorielle des correspondances sur 29 allèles des 11 loci polymorphes, montre qu'il ne s'agit pas d'un simple biais d'échantillonnage lié aux faibles effectifs. Les 4 premiers facteurs représentent 80% de l'inertie totale, et 27 variables y sont représentées à plus de 50% (somme des contributions relatives sur ces axes). Le plan factoriel défini par les axes 1 et 3 (Figure 23) fait clairement apparaître le regroupement des génotypes ayant une même origine géographique. La classification des échantillons en deux groupes, séparant ceux du Sud-Est de la Côte d'Ivoire (Sikensi, Abidjan) de ceux des régions Ouest (Gagnoa, Man) et Nord (Khorogo), est validée à 100% par l'analyse discriminante portant sur les 4 axes factoriels.

1.3.3. Structures génotypiques des hybrides spontanés

Chez les hybrides spontanés, 10 génotypes sont distingués par électrophorèse. L'examen des zymogrammes sur 8 loci (GOTB, SKDHA, MDHA, IDHA, PGDB, ESTA, PGIA, LAPA) révèle une structure totalement hétérozygote *M. esculenta* x *M. glaziovii* chez la plupart des hybrides (pour les autres loci, la présence d'allèles communs aux deux espèces ne permet pas de conclure). Deux hybrides ont des loci à l'état homozygote *M. esculenta*: loci PGIA et LAPA pour le n° H69, et locus PGIA pour le n° H82. On n'observe aucun cas d'homozygotie *M. glaziovii*. Il existe donc divers stades d'introgression vers le type cultivé, les formes de retour avancé conservant néanmoins une structure fortement hétérozygote.

Les formes hybrides spontanées exploitent une large part de la diversité de chacune des espèces parentales. Au niveau des loci polymorphes, on retrouve chez les hybrides:

- 13 des 16 allèles non nuls spécifiques à M. esculenta;
- 22 des 27 allèles spécifiques à M. glaziovii;
- 11 des 12 allèles communs aux deux espèces.

		nombre de	nouaison	remplissage	germination
FEMELLE	MALE	croisements			
ļ		(C)	(F/C)	(G/3F)	(P/G)
M.esculenta	M.glaziovii				
402	G113B	312	0,049	0,87	0,35
V7	G113B	347	0,032	0,36	0,17
V22	G159	70	0	-	-
	Divers	64	0	-	•
Hybrides	Hybrides				
H55	H69	102	0	-	-
H55	H82	119	0,034	0	-
H57	H69	203	0,059	0,42	0,47
H57	H82	153	0,007	0	-
H69	H82	120	0	-	-
H71	H82	130	0,015	0	-
H82	H57	- 96	0	-	-
H82	H82	119	0,05	0	•
H138	H82	97	0	-	-
	Divers	332	o '	-	-
M.esculenta	Hybrides				
V7	H69	134	0,09	0,06	0
	Divers	93	0	- -	-
Hybrides	M.glaziovii				
H82	G33 ⁻	116	0,009	0,67	0
	Divers	48	0	-	<u> </u>

Tableau 28: Taux de réussite des croisements interspécifiques par fécondations contrôlées. F: nombre de fruits;
G: nombre de graines;
P: nombre de plantules.

2°) Les possibilités de transferts géniques

2.1. Obtention d'hybrides interspécifiques

Comme au niveau intraspécifique, on distingue 3 phases entre la pollinisation et l'obtention d'une plante hybride (Annexe VI): la nouaison, le remplissage des fruits, et la germination des graines. De manière générale, les croisements interspécifiques par pollinisation manuelle sont possibles, mais les taux de réussite restent faibles (Tableau 28).

2.1.1.Obtention d'hybrides F1

Toutes les graines hybrides ont été obtenues à partir de variétés M. esculenta présentant des marqueurs enzymatiques d'introgression par M. glaziovii. Si les taux de nouaison et de germination sont faibles, le taux de remplissage des fruits peut être dans certains cas équivalent à celui des croisements intraspécifiques les plus fertiles. La variabilité de ces paramètres suggère l'intervention d'un contrôle génétique dû au génotype femelle ou à une interaction mâle x femelle: la Figure 24 montre que le génotype V7 a un comportement différent suivant qu'il est pollinisé par M. esculenta ou M. glaziovii, tandis que la variété 402 fournit le même résultat dans les deux cas.

Au total, sur 14 plantules F1 ayant germé, 11 ont eu un développement végétatif normal et 3 sont restées chétives.

Finalement, le meilleur croisement M. esculenta x M. glaziovii donne 0,032 plante hybride par fleur pollinisée (ce taux allant de 0 à 0,294 dans les croisements intraspécifiques chez M.esculenta).

2.1.2. Croisements entre formes hybrides spontanées

Les croisements entre hybrides spontanés donnent peu de fruits, et les effectifs obtenus sont trop faibles pour tester des différences au niveau du remplissage ou de la germination. On observe néanmoins des différences significatives du taux de nouaison, qui permettent de définir des groupes de comportement en croisement. La Figure 25 différencie deux groupes, H57 et H69 d'une part, H55 et H82 d'autre part, qui se caractérisent par une meilleure nouaison intra-groupe qu'inter-groupe.

A ce niveau, seules 4 des 7 plantules F2 ont pu être analysées en électrophorèse, les autres, ayant montré des symptômes très marqués de mosaïque et de bactériose, n'ont pas fourni suffisamment de matière fraiche.

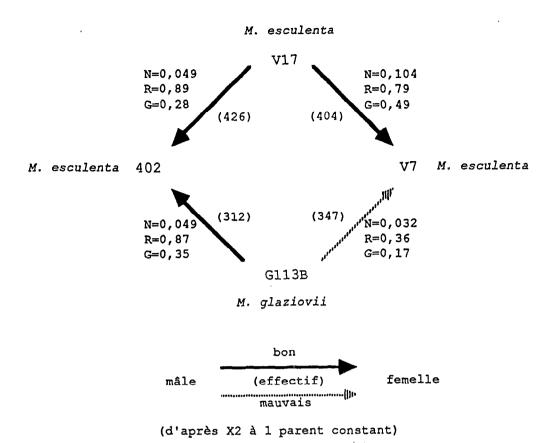


Figure 24: Taux de nouaison (N), remplissage des fruits (R), et taux de germination (G) obtenus après fécondation contrôlée dans deux combinaisons intra- et interspécifiques.

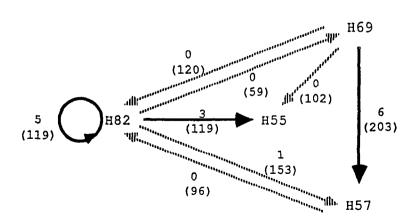


Figure 25: Taux de nouaison (x 100) obtenus après croisement contrôlé entre hybrides interspécifiques spontanés.

(voir légende Figure 24, le nombre de pollinisations est indiqué entre parenthèses)

2.1.3. Structure génotypique des F1

Les 10 descendants du croisement 402 x G113B ont une structure hétérozygote pour au moins 18 loci. Au locus ESTA, deux descendants ne possèdent pas l'allèle A2 du parent *M.glaziovii*; la réalisation d'une autofécondation permettrait de vérifier l'existence d'un allèle nul chez ce parent.

La variété 402 présente un marqueur d'introgression (allèle B3) à l'état hétérozygote au locus GOTB. En croisement interspécifique, on observe une distorsion de ségrégation gamétique en faveur de cet allèle "sauvage" (présent chez 9 des 10 descendants); cette distorsion n'apparait pas dans l'autofécondation du clone 402 (Annexe IV). Les autres loci à l'état hétérozygote chez l'un ou l'autre des parents ségrègent normalement.

2.2. Fertilité pollinique des hybrides interspécifiques

Parmi les hybrides obtenus par croisements contrôlés, 6 plantes F1 et 1 F2 ont été observées en floraison. Leur fertilité pollinique varie de 28% à 73% pour les F1, elle est de 39% pour la F2.

Chez les hybrides spontanés, on observe deux formes de stérilité pollinique:

- anthères vides;
- présence de pollen non colorable dans des anthères indéhiscentes.

L'observation de cellules en méiose chez deux hybrides, représentant chaque type de stérilité (respectivement les n° H56 et H19), révèle la présence de 18 bivalents en métaphase I ayant une dissociation apparemment régulière à l'anaphase I.

Seuls 4 hybrides spontanés sont fertiles (H57, H69, H80, H82), avec 35% à 60% de grains de pollen colorables. On remarque, par ailleurs, que les 2 hybrides les plus fertiles sont les n° H69 et H82 présentent des loci à l'état homozygote *M. esculenta*.

2.3. Analyse de ségrégations "F2"

Cette étude porte sur 6 loci pour lesquels l'ensemble des hybrides spontanés en collection ont une structure hétérozygote *M. esculenta* x *M. glaziovii* : GOTB, SKDHA, MDHA, PGIB, IDHA, PGDB. Les effectifs ne permettent pas de déceler des distorsions de ségrégation à chaque locus, mais on observe une tendance générale à la perte d'allèles "sauvages", ainsi qu'une restriction de la recombinaison entre les loci GOTB et SKDHA, PGDB et IDHA, ou PGIB et

STRUC	TURE			EFFEC1	IFS OBS	ERVES		
GENOTY	PIQUE	COTE	SKDHA	MDHA	IDHA	PGDB	PGIB	TOTAL
Homozygote	M.glaziovii	4	2	5	5	5	4	25
Hétérozygote		10	19	1 0	10	9	14	72
Homozygote	M.esculenta	9	2	8	8	9	5	41
	X2	2,57 -	9,78	1,17	1,17	2,48	1,17	3,97

NOMBRE DE LOCI		TIFS OBSERVES	
HETEROZYGOTES	GOTB-SKDHA	PGIB-SKDHA	PGDB-IDHA
o	3	. 0	12
1	9	12	3
2	11	11	8
X2	6,65 *	10,57	13,96

Tableau 29: Structures génotypiques et nombre de loci hétérozygotes chez 23 "F2" interspécifiques, test des hypothèses de ségrégation aléatoire des allèles à la "F1", et test d'indépendance entre les loci.

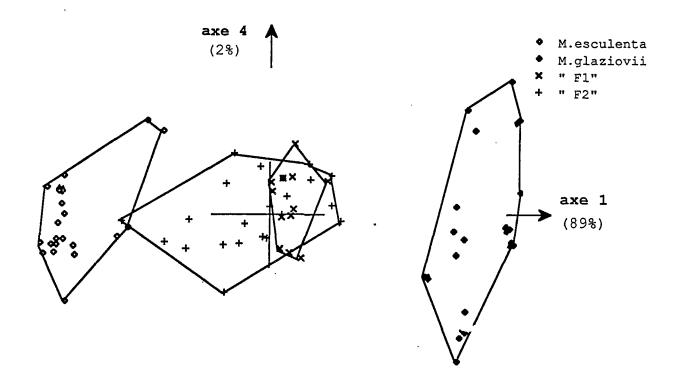


Figure 26: Plan factoriel 1-4 d'une A.F.C. portant sur 21 allèles de *Manihot esculenta* et *Manihot glaziovii*, projection des hybrides "F1" et "F2" en points supplémentaires.

SKDHA (Tableau 29). On retrouve de telles distorsions au niveau des marqueurs *M. glaziovii* de certaines variétés de manioc introgressées: déficit en allèles IDHA2 et PGDB3, fortement liés, dans les gamètes de la variété V17 (annexes IV et V).

L'analyse multivariée fait clairement ressortir ce qui apparaît plus ou moins nettement au niveau de chaque locus. L'analyse factorielle des correspondances porte sur les 21 allèles recensés dans l'échantillon composé de 25 génotypes M. esculenta et 25 génotypes M.glaziovii (Annexe VIII). On projette, en points supplémentaires, 21 génotypes "F1" (11 F1 contrôlés et 10 hybrides spontanés) et les 23 descendants d'intercroisement entre ces "F1" (4 issus de fécondations contrôlées et 19 de fécondations libres). Le premier axe factoriel est un axe de différenciation entre les espèces, qui représente 89% de l'inertie totale. La Figure 26 montre un net retour des "F2" vers le parent cultivé.

	SOURCE DE VARIATION	S.C.E.	D.D.L.	C.M.	F	
N 3	Totale	1373,261	143			
	facteur GENOTYPE	1013,492	23	44,065	22,71	* * *
	facteur BLOC	38,886	1	38,886	20,04	* * *
1	interaction BLOC x GENOTYPE	134,644	23	5,854	3,02	* *
	residuelle	186,239	96	1,941		
EF1	Totale	904,957	143	···········		
	facteur GENOTYPE	705,571	23	30,677	20,05	* * *
t !	facteur BLOC	10,037	1	10,037	6,56	*
?	interaction BLOC x GENOTYPE	42,498		1,848	1,21	-
	residuelle	146,852		1,531	•	

Tableau 30: Vitesse de reprise après le bouturage: mise en évidence de différences entre les génotypes.

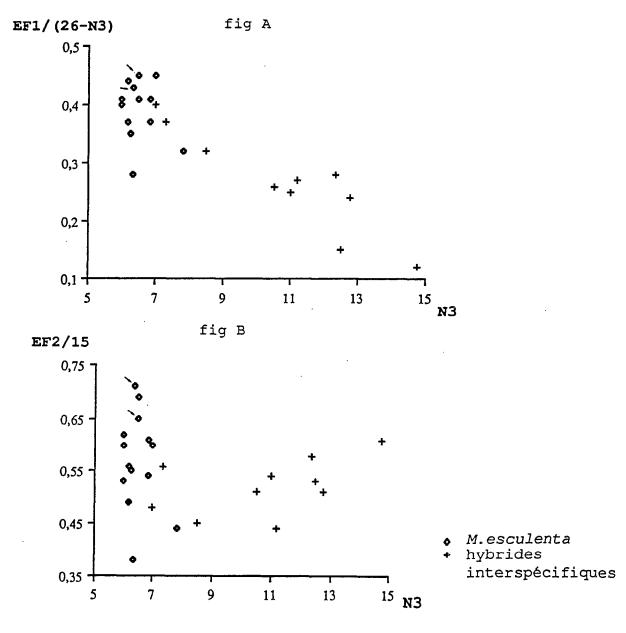


Figure 27: Relation entre la vitesse d'apparition du premier bourgeon et l'émission foliaire journalière juste après reprise (Fig A), ou 1 mois après reprise (Fig B). (moyennes générales de chaque génotype, les 2 répétitions du génotype V7 sont indiquées par *)

C. EVALUATION AGRONOMIQUE DES FORMES INTROGRESSIVES

1°) Les caractères de domestication

1.1. Aptitude au bouturage

On note des différences entre génotypes au niveau du nombre de jours nécessaires pour la reprise d'au moins 3 boutures sur la ligne, N3, et au niveau du nombre cumulé de feuilles émises à 26 jours, EF1 (Tableau 30).

Pour 20 génotypes (+1 double), au niveau intraclonal, il n'y a pas de corrélation significative entre le nombre de feuilles émises à 26 jours et le poids de la bouture (ces corrélations sont calculées pour 20 à 30 boutures par génotype, avant remplacement, ayant un poids compris entre 30 et 300 grammes). Pour les 3 génotypes restants, la corrélation reste faible, et les coefficients de détermination sont inférieurs à 0,31. Ce n'est donc pas uniquement la quantité de réserve disponible dans la bouture qui détermine les différences observées sur la vitesse de reprise après bouturage.

On peut mesurer la croissance initiale par EF1/(26-N3), qui représente le taux moyen d'émission foliaire juste après la reprise. On observe une liaison entre la vitesse de reprise des boutures (N3) et la croissance initiale (Figure 27A). Il n'y a plus de relation avec l'émission foliaire quotidienne mesurée entre 26 et 40 jours (Figure 27B). Il apparaît donc que les deux facteurs précédents, vitesse de reprise et croissance initiale, mesurent un même phénomène que l'on peut qualifier d'aptitude au bouturage, qui fait intervenir l'initiation et le développement des bourgeons.

Deux formes hybrides spontanées, n° H69 et H82, ont un comportement de type cultivé. Parallèlement, le premier de ces deux génotypes se caractérise par des noeuds fortement proéminents. On remarque par ailleurs la position de 2 variétés introgressées, V13 et V17, qui conservent un taux d'émission foliaire faible même après 26 jours.

1.2. Port

Les hybrides se caractérisent par un fort développement des parties aériennes, certains génotypes ayant un port typiquement arborescent, atteignant 4 mètres de hauteur à 6 mois, et un diamètre à la base de 10 cm à 10 mois (Figure 28).

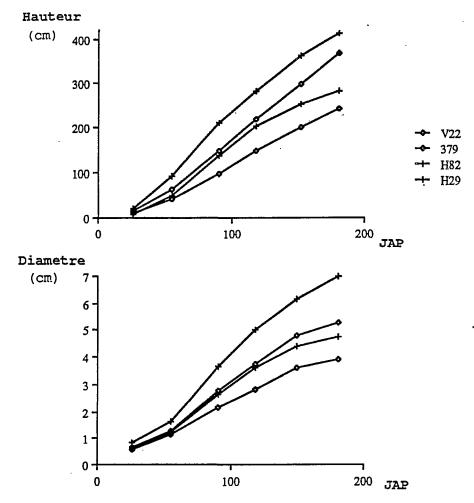


Figure 28: Croissance en hauteur et diamètre à la base chez 2 génotypes Manihot esculenta (V22, 379) et 2 génotypes hybrides (H29, H82).

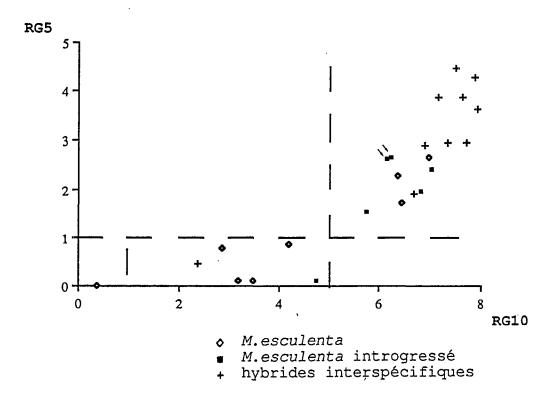


Figure 29: Relation entre les rangs de ramification atteints à 5 mois (RG5) et à 10 mois (RG10). (les 2 répétitions du génotype V7 sont indiquées par +)

La Figure 29, donnant le rang de ramification atteint à 10 mois (RG10) en fonction du rang de ramification à 5 mois (RG5), sépare trois modèles architecturaux:

- un clone non ramifié (RG10 < 1);
- des clones peu ramifiés (RG10 < 5);
- des clones fortement ramifiés (RG10 > 5).

Les deux premiers types ne présentent pas de ramification avant 5 mois (RG5 < 1), soit avant d'avoir atteint une hauteur de 1,75m pour la variété 1 à 2,85m pour la variété V14. La couverture végétale est alors très différente de celle des variétés fortement ramifiées, c'est-à-dire à ramification précoce. Les formes hybrides se distinguent par un port très ramifié, atteignant 7 à 8 niveaux de ramification en 10 mois, et une ramification précoce, certains génotypes ayant plus de la moitié de leurs floraisons pendant les 5 premiers mois. On retrouve ces caractéristiques chez la plupart des variétés introgressées.

Les hybrides présentent également un plus grand nombre de ramifications secondaires formées à chaque niveau de ramification (Figure 30).

Remarque: l'hybride H35 présente peu de ramifications typiques liées à la floraison, mais il développe un très grand nombre de gourmands. Ce développement anormal pourrait être dû à un endommagement de l'apex chez ce génotype particulièrement sensible aux maladies.

1.3. Aptitude à la tubérisation

COURS (1951) montre que, chez le manioc, les premières racines sont émises à partir des nœuds enterrés les plus proches de la base de la bouture, ce sont les racines "nodales", puis ce sont les racines "basales" qui se développent à partir du cal cicatriciel. Toutes les racines sont susceptibles d'accumuler de l'amidon. Les facteurs responsables de l'initiation de la tubérisation ne sont pas connus (VELT KAMP, 1986).

Chez les hybrides interspécifiques, on n'observe pas de racines nodales à la récolte (si certaines ont été émises lors de la phase de reprise, aucune n'est restée fonctionnelle). Pour la formation de tubercules, on distingue 3 situations:

- 6 génotypes sans tubérisation;
- 2 génotypes à tubérisation occasionnelle, localisée ponctuellement sur les racines de quelques pieds seulement;
- 2 génotypes à tubérisation régulière, sur chaque pied.

Dans le troisième cas (n° H69 et H82), le nombre de racines tubérisantes est variable, et les zones d'accumulation de l'amidon ont une répartition irrégulière le long de la racine.

	SOURCE DE VARIATION	S.C.E.	D.D.L.	C.M.	F	
AP2	Totale	64,067	125			
	facteur GENOTYPE	51,181	20	2,559	20,65	* * *
	facteur BLOC	0,071	1	0,071	0,57	-
į	interaction BLOC x GENOTYPE	4,404	20	0,121	0,97	-
7	residuelle	10,411	8 4	0,124	•	

H1 V48 V22 H82 V17 H80 V7B 402 H57 147 V14 V28 V7 379 V13 H69 H3 H71 H109 H35 H29

Figure 30: Nombre d'apex par ramification, mise en évidence de différences entre les génotypes et comparaison multiple des moyennes.

(3 clones non ramifiés, ou fortement endommagés par la virose, ne sont pas pris en compte)

	SOURCE DE VARIATION	S.C.E.	D.D.L.	C.M.	F	
TBA	Totale	4094,933	143	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	· .	
}	facteur GENOTYPE	3630,396	23	157,841	43,05	* * *
1	facteur BLOC	4,557	1	4,557	1,24	· _
,	interaction BLOC x GENOTYPE	108,059	23	4,698	1,28	•
:	residuelle	351,983	96	3,666		

H109 H80 H57 H29 H3 H1	н35	н71	31	1	V28 379 316	V48 V13 147 V22 402 V17	Н69 Н82	V14	V7 V7B	
0					····	 				15

Figure 31: Nombre de racines basales tubérisées, mise en évidence de différences entre les génotypes et comparaison multiple des moyennes.

On remarque un plus grand nombre de tubercules basaux chez les hybrides à tubérisation régulière et les variétés introgressées que chez les autres variétés de manioc (Figure 31).

1.4. Les niveaux d'introgression

Les hybridations réalisées par NICHOLS (1947) et JENNINGS (1957) ont montré qu'à partir d'un hybride F1 *M. esculenta* x *M. glaziovii* 3 back-cross sont nécessaires pour retrouver un manioc cultivé.

Dans notre échantillon, l'examen des profils enzymatiques et des caractères de domestication nous permet de distinguer 4 étapes du processus d'introgression de gènes de *M.glaziovii* chez *M. esculenta*:

<u>code</u>	<u>niveau</u>	<u>caractéristiques</u>	clones
E	M. esculenta s.s.	aucun isozyme de <i>M. glaziovii</i>	1, 31, 147, 316, 379, V22, V28, V48;
Ι	M. esculenta introgressé	généalogie connue et/ou marqueurs isozymiques d'introgression	402, V7(+B), V13, V14, V17;
вс	hybride de type back-cross	plus de 50% d'isozymes M. esculenta, aptitude au bouturage, tubérisation	H69, H82;
F	hybride de type "F _n "	50% d'isozymes <i>M. esculenta</i> , reprise lente au bouturage, pas de tubérisation	H1, H3, H29, H35, H57, H71, H80,H109;

Dans la suite de l'évaluation, après avoir caractérisé le comportement de chaque génotype, on comparera 2 à 2 les moyennes de chacune des étapes de l'introgression par un test de Mann-Whitney. Compte-tenu des effectifs, les comparaisons seront les suivantes:

- (F, BC) par rapport à (E, I);
- I par rapport à E;
- (F, BC) par rapport à I;
- F par rapport à E;
- F par rapport à (BC, I);
- (BC, I) par rapport à E.

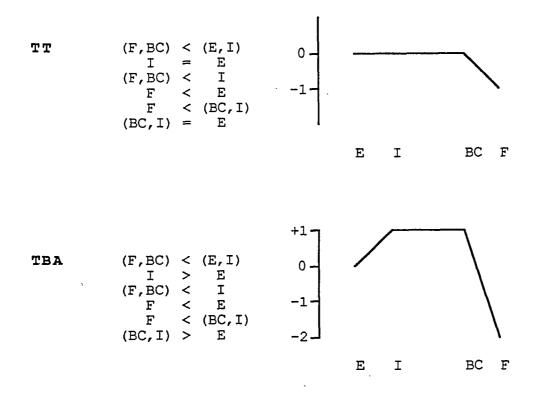


Figure 32: Nombre total de racines tubérisées (TT) et nombre de racines basales tubérisées (TBA), comparaison des moyennes de chaque niveau d'introgression.

	SOURCE DE VARIATION	S.C.E.	D.D.L.	C.M.	F	
IGS1	Totale	59,655	143			
	facteur GENOTYPE	50,383		2,191	28,16	* * *
	facteur BLOC	0,034		0,034	0,44	-
	interaction BLOC x GENOTYPE	1,769		0,077	0,99	-]
	residuelle	7,469		0,078		
					·	
IGS2	Totale	98,107	143			İ
	facteur GENOTYPE	81,815	23	3,557	33,07	* * *
	facteur BLOC	0,581	1	0,581	5,39	*]
	interaction BLOC x GENOTYPE	5,386	23	0,234	2,18	* *
	residuelle	10,326	96	0,108		
IGS3	Totale	101,616	143	* ***		
	facteur GENOTYPE	87,584		3,808	34,33	* * *
	facteur BLOC	0,449	. 1	0,449	4,05	*
	interaction BLOC x GENOTYPE	2,936		0,128	1,15	-
	residuelle	10,647	96	0,111		

Tableau 31: Indice de gravité des symptômes de la mosaïque: mise en évidence de différences entre les génotypes.

Les résultats obtenus pour le nombre total de racines tubérisées par pied, TT, et le nombre de racines basales tubérisées, TBA, sont schématisés sur la Figure 32, où une différence d'une unité sur l'échelle verticale représente le seuil à partir duquel les moyennes sont différentes $(\alpha=0,01)$, l'échelle horizontale étant arbitraire. Le premier schéma illustre le fait qu'une fois acquise l'aptitude à la tubérisation, le nombre de racines tubérisantes est immédiatement le même que chez un manioc cultivé. Il y a alors un phénomène de compensation, dans la mesure où les types sauvages, ne développant pas de racines nodales, produisent plus de racines basales. Le second schéma indique que ce caractère de forte production de racines basales peut se retrouver chez des variétés de manioc introgressées.

2°) Comportement phytosanitaire

2.1 Résistance à la mosaïque africaine du manioc

2.1.1. Résistance au développement des symptômes

Globalement, on observe une aggravation des symptômes entre 2 et 3 mois, suivie d'une stabilisation entre 3 et 4 mois: la moyenne générale de l'indice de gravité des symptômes (IGS) passe de 0,89 à 1,22 puis à 1,19. L'analyse de la variance fait ressortir d'importantes différences entre génotypes à chaque date (Tableau 31). Il ressort également une différence entre les deux blocs à 3 et à 4 mois, avec un effet d'interaction bloc x génotype à 3 mois.

Afin de classer les génotypes dans chaque bloc, on réalise deux classifications ascendantes hiérarchiques (distance euclidienne, critère de la variance) sur la moyenne des IGS de chaque génotype. Les deux dendogrammes obtenus sont très proches (Figure 33) et nous permettent de distinguer 3 groupes:

- 5 génotypes sensibles: C1, C31, C316, H35, H71;
- 10 génotypes moyennement résistants: C379, V1, V17, V28, V48, H1, H57, H69, H80, H109;
- 8 génotypes résistants: C402, V7=V7B, V13, V14, V22, H3, H29, H82. Dans le groupe intermédiaire, le clone V17 est plutôt résistant, et l'hybride H109 plutôt sensible.

Les niveaux relatifs de résistance pour chaque étape de l'introgression sont schématisés sur la Figure 34. Tandis que les hybrides du niveau F ont des comportements divers, les deux hybrides du niveau BC ont des niveaux de résistance comparables à ceux des variétés M. esculenta introgressées.

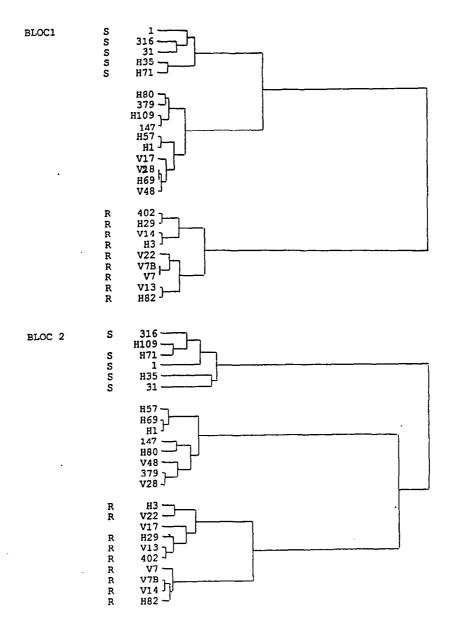


Figure 33: Classification des génotypes d'après les 3 mesures de gravité des symptômes de la mosaïque dans les blocs 1 et 2.
S: génotypes sensibles
R: génotypes résistants

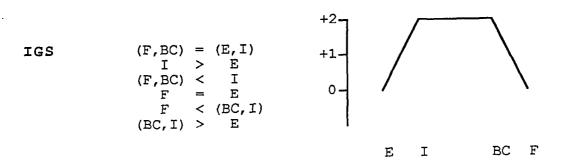


Figure 34: Résistance au développement des symptômes de la mosaïque, comparaison des moyennes de chaque niveau d'introgression. (le même résultat est obtenu pour IGS1, IGS2 et IGS3)

2.1.2. Résistance au vecteur

FARGETTE (1985) montre qu'en dehors des effets génétiques d'interaction plante-insecte, la taille de la population d'aleurodes dans une parcelle de manioc dépend de facteurs climatiques (vent, température, rayonnement global, et tension de vapeur d'eau), de facteurs liés à la plante hôte (phase de croissance ou de repos végétatif, teneur en azote dans les feuilles), et d'autres facteurs biotiques (présence de parasites, activité des prédateurs).

La Figure 35 représente l'évolution du nombre moyen de mouches par apex (valeurs mesurées et tendances calculées par régression polynômiale mobile), pour les blocs 1 et 2, tous génotypes confondus. Même si la population d'aleurodes est légèrement plus forte dans le bloc 2, on remarque une bonne synchronisation entre les deux tendances; celles-ci ont la même allure, avec un pic situé entre 2 et 3 mois après plantation. Compte tenu de cette synchronisation, la comparaison des génotypes porte sur les tendances dégagées à partir des profils moyens, blocs 1 et 2 confondus.

Afin de caractériser les différentes tendances, on réalise une analyse en composantes principales sur les 13 valeurs calculées pour chaque génotype. Le premier axe représente 50% de l'inertie totale, il est défini par le nombre de mouches aux dates 3 à 8 (maximum et phase décroissante du pic). Le 2^e axe (22% de l'inertie) est défini par les dates 11 et 12 (début de la phase de reprise). Les 4 premiers axes expriment 90% de la variation totale. Une classification hiérarchique ascendante (distance euclidienne et critère de la variance) fait apparaître 3 types de comportement (Figure 36), pour lesquels on utilise la même terminologie que dans le cas de la résistance au développement des symptômes: génotypes sensibles, moyennement résistants et résistants.

Les clones 1 et 31 sont classés parmi les résistants au vecteur, mais il peut s'agir d'un artefact: ces 2 variétés sensibles à la maladie montrent des symptômes extrèmement marqués (forte réduction de la surface foliaire et de la hauteur du plant) qui influent sur l'attirance des mouches.

On retrouve ici une certaine relation entre la sensibilité au vecteur et la pilosité (FARGETTE, 1985):

	glabres	<u>pubescents</u>
sensibles	0	3
moyennement résistants	6	3
résistants	10	1

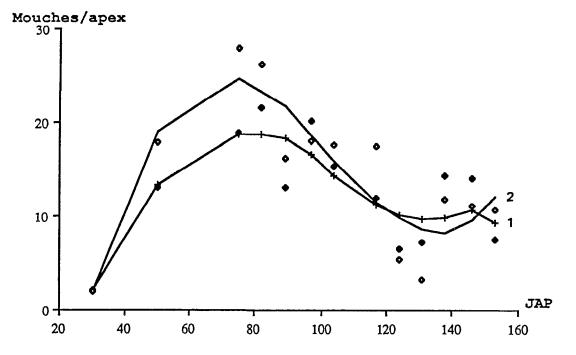


Figure 35: Evolution au cours du temps du nombre moyen d'aleurodes par apex pour les blocs 1 et 2, représentation des tendances.

Génotypes SENSIBLES

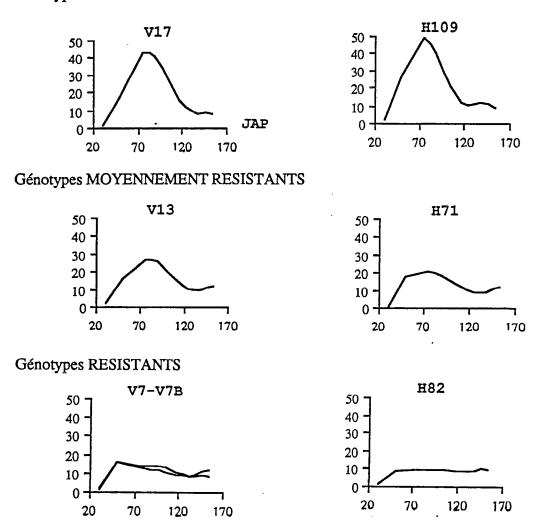


Figure 36: Caractérisation de la résistance au vecteur de la mosaïque: évolution au cours du temps du nombre d'aleurodes par apex, représentation des tendances.

MALADIE VECTEUR	Résistants	Moyennement résistants	Sensibles
Résistants	402; V7(B); V14; V22; H3; H29; H82	V28; H57; H80	1; 31
Moyennement résistants	V13; V22	379;147; V48 H69	316; H35; H71
Sensibles		V17; H1; H109	

Tableau 32: Caractérisaton de la résistance à la mosaïque des différents génotypes.

	SOURCE DE VARIATION	S.C.E.	D.D.L.	C.M.	F	
D.A.O.4	T-A-1-	20.700	446			
BAC1	Totale facteur GENOTYPE	62,708 22,192		0,965	3,51	* *
	facteur BLOC	2,192	1	2,421	8,77	
•	interaction BLOC x GENOTYPE	11,603		0,505	1,83	*
	residuelle	26,493		0,276	.,	
BAC2	Totale	29,158				
i	facteur GENOTYPE	11,488	23	0,499	3,39	~ ~
: •	facteur BLOC interaction BLOC x GENOTYPE	0,001 3,558	1 23	0,001 0,155	0,01 1,05	_
t	residuelle	14,111		0,133	1,00	_
BAC3	Totale	38,303			P 44	أميا
	facteur GENOTYPE	16,164		0,703	5,19	n n n
	facteur BLOC interaction BLOC x GENOTYPE	0,073 9,059	1 23	0,073 0,394	0,54 2,91	* *
	residuelle	13,008		0,394	۲,31	
				0,100		
COC1	Totale	102,067				
	facteur GENOTYPE	53,488	23	2,326	5,64	* * *
	facteur BLOC	0,887	1	0,887		-
	interaction BLOC x GENOTYPE	8,076	23	0,351	0,85	-
	residuelle	39,616	96	0,413	_:-:-:	
COC2	Totale	101,732	143		···	
	facteur GENOTYPE	68,121	23	2,962	10,33	* * *
	facteur BLOC	0,831	1	0,831	2,89	-
	interaction BLOC x GENOTYPE	5,251	23	1,228	0,81	-
	residuelle	27,531	96	0,287	 	
COC3	Totale	75,972	143	 		
	facteur GENOTYPE	38,292	23	1,665	5,78	* * *
	facteur BLOC	0,808	1	0,808	2,81	-
	interaction BLOC x GENOTYPE	9,228	23	0,401	1,39	-
<u> </u>	residuelle	27,643	96	0,238		
Н82						
V28 H1			•			
V17 V48						
V14 V22 V13 379	H80 H71 H1 V7B H57 H6	L09 59				
147 316		29 1		Н	35	
- · ·					ງ ງ	
2 ———			<u> </u>		3,3	
	1102					
V17	H82 H3	1	н80			
V13 V14	V48 H1 37	9 :	H71	a .	н69	**00
V7 V7B	V28 147 V22 316 1	H109	Н35 Н57	41	02 31	н29
0,8				•		2,5

Figure 37: Sensibilité à la bactériose vasculaire et aux cochenilles, mise en évidence de différences entre les génotypes et comparaison multiple des moyennes.

En revanche il n'apparaît plus de liaison entre résistance au vecteur et forte teneur en acide cyanhydrique dans les feuilles, dans la mesure où certains génotypes hybrides, à forte teneur, hébergent beaucoup de mouches.

Le Tableau 32 récapitule les comportements de chaque génotype vis-à-vis de la mosaïque. Parmi les génotypes résistants simultanément à la maladie et au vecteur, figurent un clone *M.esculenta*, 3 variétés introgressées, 1 hybride du niveau BC, et 2 hybrides du niveau F. Le test de Mann-Whitney ne fait apparaître aucune différence significative entre les niveaux d'introgression.

2.2. Résistance à la bactériose vasculaire et à la cochenille farineuse

Dans le cas de la bactériose, les attaques observées ne sont pas très importantes; dans le cas de la cochenille, il n'a été observé qu'une attaque secondaire au mois d'Août, peu sévère, liée à un retard de la saison des pluies (les attaques les plus fortes étant généralement observées en saison sèche). Pour ces deux parasites, les symptômes extériorisés sont peu discriminants entre les génotypes, et ne permettent de dégager que les situations extrèmes.

L'analyse de la variance montre des différences entre génotypes à chaque date, avec, pour la bactériose, des différences entre blocs à 203 jours après plantation (JAP), et des interactions bloc x génotype à 243 JAP. Le test de comparaison de moyennes met en évidence la forte sensibilité à la bactériose de l'hybride H35, ainsi que la sensibilité à la cochenile des variétés 1 et 402 et des hybrides H29 et H69 (Figure 37). On remarque, pour les deux parasites, le bon comportement de l'hybride H82, également résistant à la mosaïque.

3°) Vigueur et croissance

COCK et al. (1979) montrent que la production totale de matière sèche est principalement déterminée par l'indice foliaire. D'autre part, la matière sèche produite est distribuée en priorité dans les parties aériennes, et, au-delà d'une valeur optimum de l'indice foliaire, le surplus de production n'est utilisé que pour le maintien d'un indice foliaire élevé, sans augmenter le rendement en racines. L'obtention d'une variété à haut rendement passe donc par la recherche d'un compromis entre la vigueur végétative et la distribution de la matière sèche. Etant donné l'absence de tubérisation chez la plupart des hybrides interspécifiques échantillonnés, on ne s'intéresse ici qu'à la vigueur végétative des génotypes.

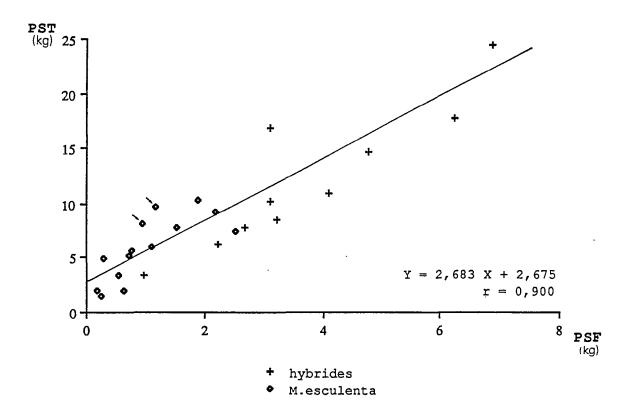


Figure 38: Relation entre le poids sec de feuilles à la récolte (PSF) et le poids sec total par plante à la récolte (PST) au sein de l'échantillon étudié.

(les 2 répétitions du génotype V7 sont indiquées par →)

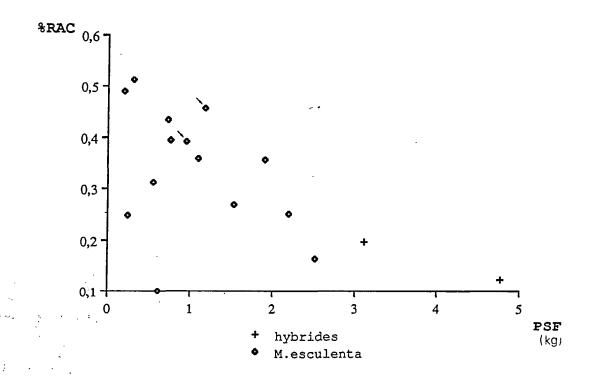


Figure 39: Relation entre le poids sec de feuilles à la récolte (PSF) et la part du poids sec distribuée dans les racines (%RAC) au sein du sous-échantillon des génotypes à tubérisation régulière.

(les 2 répétitions du génotype V7 sont indiquées par →)

Si l'on prend, comme indicateur de l'indice foliaire, le poids sec total des parties vertes à la récolte (PSF), on observe bien une corrélation positive entre la masse foliaire et la production de matière sèche (poids sec total par plante, PST), r²=0,81, ainsi qu'une diminution de la part du poids sec distribuée dans les racines (calculée pour les seuls génotypes aptes à la tubérisation, %RAC) chez les individus à fort développement végétatif aérien (Figures 38 et 39).

On étudie deux paramètres qui contribuent au développement des parties vertes: le nombre d'apex et le nombre cumulé de feuilles émises par apex (l'indice foliaire dépend également de la surface des feuilles et de leur durée de vie). A partir des moyennes calculées pour chaque génotype, blocs 1 et 2 confondus, on réalise une analyse en composantes principales sur les 25 variables décrivant l'évolution de ces 2 paramètres entre 1 et 6 mois après plantation. Le plan principal 1-2 représente 93% de la variabilité totale (Figure 40). Le premier axe (72%) oppose globalement le nombre d'apex et le nombre de feuilles émises par apex. On peut ainsi définir différentes stratégies de croissance, suivant que l'un ou l'autre des paramètres est privilégié: depuis le génotype H29 qui présente, à 6 mois, 150 apex et 63 feuilles émises par apex, jusqu'au génotype V14 à 2,3 apex et 162 feuilles émises.

Les hybrides interspécifiques développent leur masse foliaire par de nombreux apex qui émettent peu de feuilles (ramifications précoces et nombreuses, donnant lieu au démarrage de plus de 3 bourgeons axillaires, voir 1°). Les clones de *M. esculenta* adoptent des stratégies diverses, le taux d'émission foliaire étant généralement élevé chez les variétés peu ramifiées , type V14, et variable chez les variétés très ramifiées, types V13 et 402 (Figure 41).

En ce qui concerne la vigueur végétative, la Figure 42 suggère l'existence d'une stratégie de croissance optimale. Alors que les hybrides du niveau F ont des comportements variables, les 2 hybrides du niveau BC se situent dans la zone de plus forte vigueur. Le test de comparaison des moyennes de chaque niveau d'introgression, à l'exclusion des 5 génotypes fortement atteints par la virose, donne le schéma représenté sur la Figure 43.

4°) Valeur qualitative des racines

4.1. Teneur en amidon

La teneur en amidon est soumise à l'influence de facteurs environnementaux qui apparaissent ici sous forme d'une différence significative entre les blocs 1 et 2 (Figure 44). Chez les variétés de manioc, cette teneur varie de 62% à 80% du poids sec; chez les hybrides spontanés, elle varie bien évidemment en fonction du niveau de tubérisation:

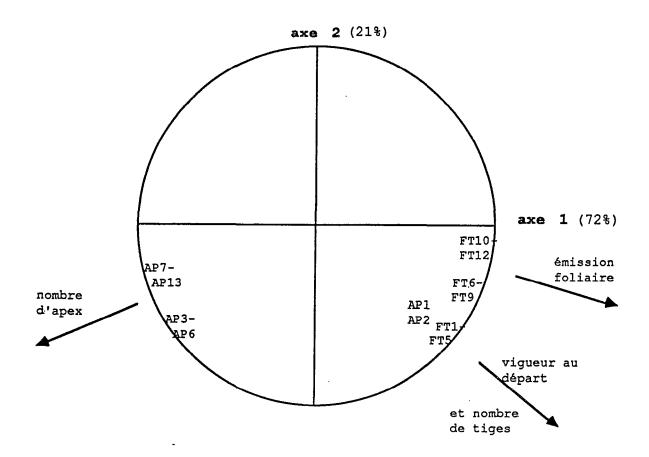


Figure 40: Plan factoriel 1-2 d'une A.C.P. portant sur les mesures du nombre d'apex par plante (AP1 à AP13) et du nombre cumulé de feuilles émises par apex (FT1 à FT12), projection des variables sur le cercle des corrélations.

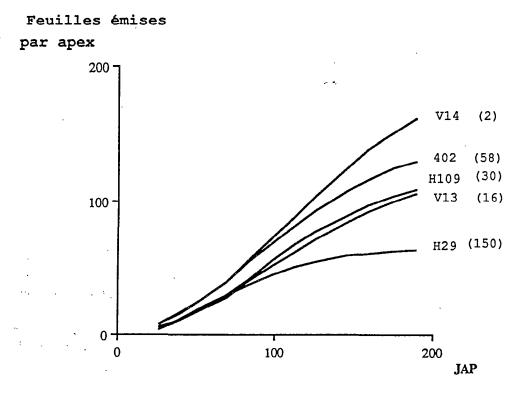


Figure 41: Evolution au cours du temps du nombre cumulé de feuilles émises par apex, pour des génotypes présentant différents niveaux de ramification.

(le nombre d'apex à 5 mois est indiqué entre parenthèses)

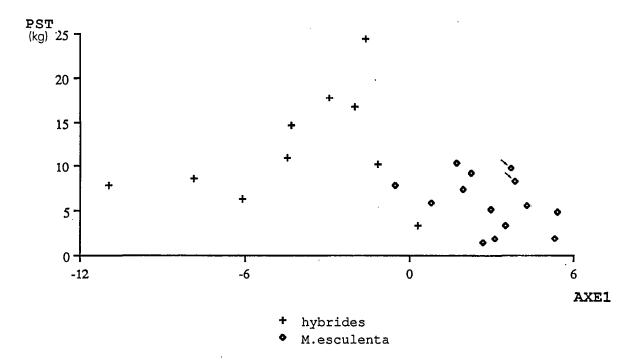


Figure 42: Relation entre le poids sec total par plante à la récolte (PST) et la stratégie de croissance définie par l'axe 1 de l'A.C.P. portant sur les mesures du nombre d'apex et d'émission foliaire.

(les 2 répétitions du génotype V7 sont indiquées par +)

Figure 43: Poids sec total par plante à la récolte, comparaison des moyennes de chaque niveau d'introgression.

		SOURCE D	E VARIATIO	NC	S.C.E.	D.D.L.	C.	M	F		
AMID	······	Totale			115594,984	143		·			
	f	acteur GEI	NOTYPE		95523,776	23	415	3,21	28,6	9 * '	* *
	1	acteur BL	oc		1170,211	1	117	0,21	8,0	8 *	* *
n	i	nteraction	BLOC x G	ENOTYPE	4992,498	23	217	,065	1,5	1	_
		esiduelle			13908,501		144	-	.,-		
	н109 н57	н80	нз	н71	н69	31 1	147	Н82 V17 379	V48 V28 V14 V7B V7 402 316	V22 V13	
н35	H29	H1									

Figure 44: Teneur en amidon dans les racines, mise en évidence de différences entre les génotypes et comparaison multiple des moyennes.

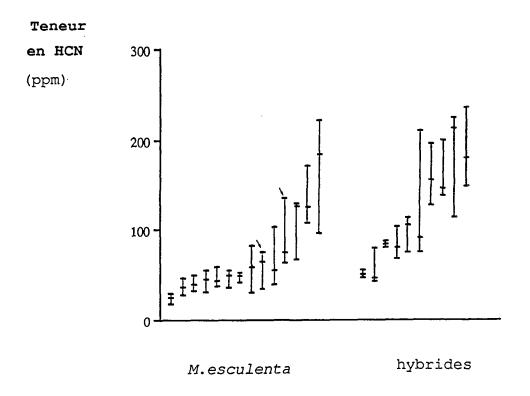


Figure 45: Teneur en acide cyanhydrique dans les racines, 3 dosages par génotype. (les 2 répétitions du génotype V7 sont indiquées par +)

- de 15% à 29,5% pour les génotypes non tubérisants;
- de 7% à 44,5% pour les génotypes à tubérisation occasionnelle (la première valeur provient de parties non tubérisées);
- de 55% à 73% pour les génotypes à tubérisation régulière.

Deux formes spontanées atteignent donc des valeurs voisines du type cultivé.

4.2. Teneur en acide cyanhydrique

Bien que le dosage de l'acide cyanhydrique montre d'importantes variations intragénotypiques, on observe des différences significatives entre les clones (Figure 45). La teneur moyenne en HCN dans les racines varie de 23 à 168 ppm pour les clones *M. esculenta*, et de 50 à 187 ppm pour les hybrides interspécifiques.

Chez les hybrides, le test qualitatif révèle toujours une teneur élevée dans les feuilles (voir B), et il est probable que les faibles teneurs, décelées uniquement chez les génotypes non tubérisants, ne soient dues qu'à l'absence de migration du glucoside cyanhydrique synthétisé dans les feuilles. Les 2 hybrides à tubérisation régulière ont des teneurs voisines de celles des variétés de manioc les plus toxiques. L'existence de variétés introgressées non toxiques prouve cependant que l'on peut s'affranchir de ce caractère.

CONCLUSION

Jusqu'à présent, aucune étude de la diversité des formes sauvages de *Manihot* en Afrique n'avait été entreprise. Les prospections réalisées en Côte d'Ivoire ont montré que *M. glaziovii* est distribué sur l'ensemble du territoire, occupant un habitat de zone perturbée, sous forme de reliquats d'anciennes plantations. Ces populations, de tailles variables, évoluent librement comme en témoigne le nombre important de jeunes plantules issues de germinations spontanées.

La mise en collection *in vivo* est plus facile en partant de graines que de boutures de tiges, mais les taux de germination restent faibles. Pour le matériel qui vient d'être collecté, d'autres techniques de conservation sont envisageables, comme le greffage sur *M. esculenta* qui a donné de bons résultats avec quatre espèces sauvages de *Manihot* au Brésil (NASSAR, 1979b).

Pour 19 loci étudiés, les zymogrammes observés dans la collection de *M. glaziovii*, ainsi que dans les descendances interspécifiques, concordent avec les hypothèses de déterminismes proposées chez *M. esculenta*: hérédité disomique et origine dupliquée des gènes codant pour les PGI et les PGD. Ces observations, qui vont dans le sens d'une même origine allopolyploïde de *M. esculenta* et de *M. glaziovii* (MAGOON *et al.*, 1969), devront être confirmées par l'étude de ségrégations sur de plus grands effectifs.

La collection de *M. glaziovii* montre un taux moyen d'hétérozygotie légèrement supérieur à celui de la collection de *M. esculenta*. Parallèlement, on recense un nombre d'allèles par locus polymorphe plus élevé chez *M. glaziovii* que chez *M. esculenta*. A l'inverse, on observe un faible polymorphisme de *M. glaziovii* pour les descripteurs botaniques. Cette discordance souligne le fait que, contrairement à ce que MARSHALL & ALLARD (1970) ont observé chez des populations naturelles d'avoines, les deux types de marqueurs ne sont pas soumis aux mêmes pressions de sélection chez l'espèce sauvage et l'espèce cultivée.

La diversité isozymique de M. glaziovii présente une répartition géographique irrégulière sur le territoire de Côte d'Ivoire: les souches collectées au Sud-Est du pays sont différenciées de celles qui proviennent du Nord et de l'Ouest. Cette situation laisse supposer une double introduction de l'espèce en Côte d'Ivoire: le pool Sud-Est serait issu de l'introduction primaire faite à Dabou (ANONYME, 1902), d'autres souches ayant été introduites par la suite vers l'Ouest et le Nord sans doute à partir de la Guinée Conakry.

Conjointement aux espèces *M. esculenta* et *M. glaziovii*, diverses formes spontanées de *Manihot*, arborescentes, sont exploitées comme arbres d'ombrage dans toute la Côte d'Ivoire. Certaines sont clonées par boutures de tiges, et semblent avoir été diffusées à travers le pays. Les

différents descripteurs utilisés, caractères botaniques, marqueurs enzymatiques, et caractères morphologiques plus complexes, concordent pour indiquer que ces formes spontanées sont des hybrides interspécifiques entre *M. esculenta* et *M. glaziovii*. Le processus d'introgression développé en Afrique met en jeu la situation de sympatrie entre les deux espèces, et la possibilité de surmonter la barrière reproductive.

Des hybrides interspécifiques ont pu être obtenus par simple pollinisation manuelle, mais la réussite des croisements est limitée à plusieurs niveaux. La réussite des hybridations F1 atteint 0,032 plantes hybrides par fleur pollinisée, elle varie suivant le clone M. esculenta utilisé comme géniteur femelle. L'existence de groupes de comportement en croisement chez les hybrides interspécifiques spontanés suggère un contrôle génétique de la barrière au niveau de la nouaison, dû à au moins 2 gènes pouvant recombiner. BAI et al. (1972) ont mentionné l'existence d'une parthénogenèse chez M. esculenta induite lors de la pollinisation par M. glaziovii, ce phénomène n'a pas été observé ici.

Les taux de germination sont restés inférieurs à 50%, et une partie des jeunes plantules a montré des signes de faiblesse. Cependant les hybrides ayant atteint le stade adulte montrent une bonne vigueur végétative. Cette vigueur est également marquée chez les hybrides spontanés.

La colorabilité du pollen des hybrides F1 atteint au maximum 73%; JENNINGS (1963), puis MAGOON et al. (1970) ont observé que ce taux augmentait au cours des back-cross successifs. Néanmoins, la majorité des hybrides ont une androcée stérile. Conformément aux observations faites par MAGOON et al. (1969), on n'observe pas de problème majeur d'appariement lors de la méiose chez deux hybrides spontanés, les chromosomes ayant une ségrégation égalitaire à l'anaphase I. Enfin, le suivi des marqueurs enzymatiques met en évidence des distorsions de ségrégation lors du passage à la génération F2, conduisant à un excès de génotypes proches du type cultivé.

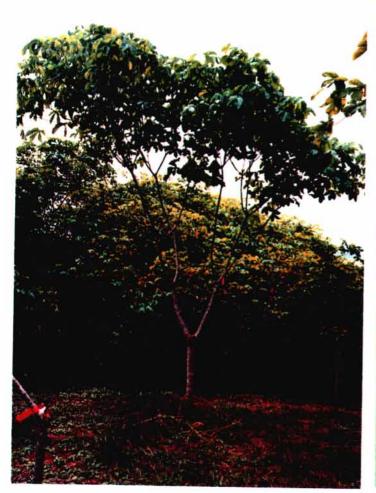
L'ensemble des hybrides interspécifiques collectés en Côte d'Ivoire représente un continuum morphologique entre les types M. esculenta et M. glaziovii. Au niveau des marqueurs biochimiques, ces formes spontanées exploitent 81,3% des allèles non nuls spécifiques de M. esculenta et 81,5% des allèles spécifiques de M. glaziovii. Deux hybrides sont voisins du type cultivé: ils se caractérisent par l'existence de loci enzymatiques à l'état homozygote M. esculenta, l'aptitude au bouturage de tiges, la tubérisation des racines, et par une colorabilité du pollen supérieure à 50%. Il semble donc qu'on soit en présence d'un essaim d'hybrides dont la variabilité a deux origines:

- la diversité des génotypes M. esculenta et M. glaziovii impliqués dans les flux géniques;
- les différents niveaux d'intercroisement, ou de recroisement sur l'espèce cultivée.

Tous les échantillons "sauvages" mis en collection à Adiopodoumé ont montré des symptômes de mosaïque, plus ou moins développés selon les génotypes. Certains hybrides spontanés n'ont jamais montré de symptômes accentués, même sur plusieurs cycles de bouturage. Si la résistance au développement des symptômes de la mosaïque est bien sous contrôle polygénique récessif (JENNINGS,1976; HAHN,1980a), il faut alors admettre que les hybrides spontanés résistants possèdent une part de leur genome à l'état homozygote M. glaziovii, ou bien qu'il existe des gènes de résistance chez M. esculenta. Nos résultats confirment par ailleurs l'existence d'une résistance au vecteur. Une étude épidémiologique plus fine permettrait de vérifier la nature de la liaison entre la résistance au vecteur et la résistance aux symptômes (chez l'hybride H82 par exemple).

Manihot glaziovii (1° plan) et hybrides interspécifiques spontanés (2° plan) maintenus en collection in vivo.

Diversité de la taille et de la forme des graines.



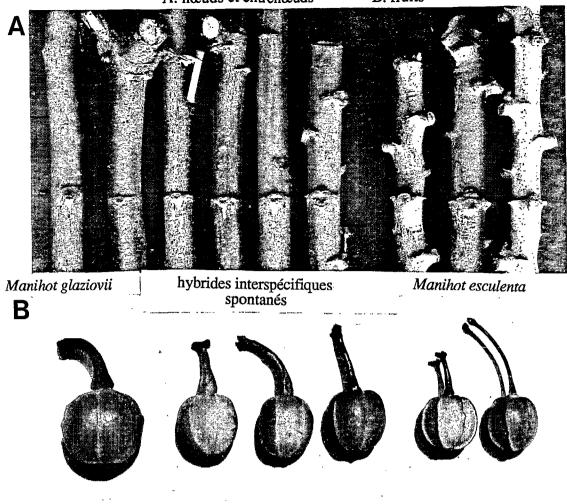




Jeunes plantules de Manihot glaziovii.

DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE

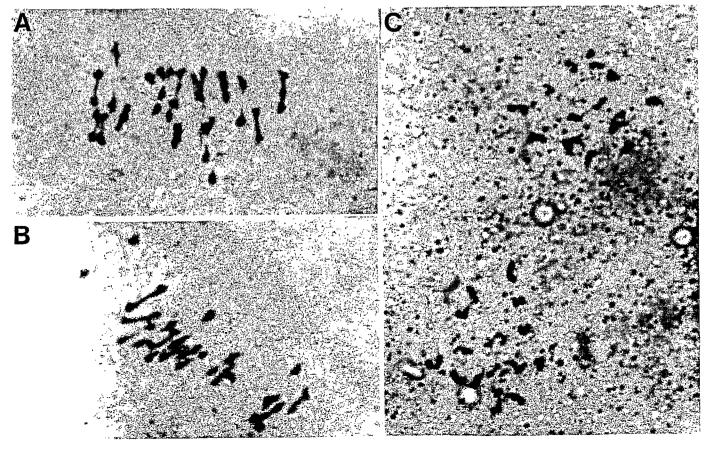
Diversité des formes hybrides M. esculenta x M. glaziovii.
A: nœuds et entrenœuds B: fruits



Cellules mères des grains de pollen en méiose chez des hybrides interspécifiques (x 24.000).

A - B: 18 bivalents en début d'anaphase I chez l'hybride stérile H19

C: prophase II chez l'hybride stérile H56



DISCUSSION

1°) Les voies d'approche de la diversité génétique

L'objectif étant de décrire la diversité génotypique d'un grand nombre de clones en collection, dans un temps limité, seuls les caractères apparemment stables pour tous les plants, quel que soit leur état sanitaire et l'année d'observation, ont été retenus. La variabilité "instable", qui s'exprime tant au niveau de caractères morphologiques que de certains isozymes, n'a pas été prise en compte. Chez la vigne, il a été montré que chaque plante a une structure chimérique composée de plusieurs clones cellulaires imbriqués, dont certains sont issus de cellules mutées (RIVES, 1961). Cette structure peut donner lieu à l'éclatement d'une variabilité "interbouture" lors de la multiplication végétative. De tels phénomènes peuvent intervenir pour expliquer les observations faites par ROGERS & FLEMMING (1973) qui, en 4 ans, ont vu 5% de leurs échantillons passer d'une note extrème de pigmentation de l'apex à l'autre. Il serait nécessaire d'estimer l'importance des mutations somatiques comme source de variation, afin de s'assurer de la stabilité réelle des marqueurs utilisés.

En faisant appel à des déterminismes génétiques simples, les marqueurs enzymatiques permettent d'aborder l'étude de la diversité du manioc sous l'angle génotypique et non plus seulement phénotypique. Dans le cas du manioc, les recherches ethnobotaniques de BOSTER (1985), chez les indiens Aguaruna du Pérou, ont montré l'effet de la sélection clonale traditionnelle qui tend à accroitre la variabilité de certains caractères botaniques. Par ailleurs, les sélectionneurs connaissent le rôle déterminant de ces caractères pour l'acceptation des variétés: DAHNIYA (1987) mentionne le cas, en Sierra Leone, de variétés améliorées pour le rendement et la résistance à la mosaïque et à la bactériose qui n'ont pu être diffusées en raison de la coloration des pétioles des feuilles et du phelloderme des racines, du port et des qualités culinaires. Il est vraisemblable que l'association "phelloderme rose - tubercules doux", particulièrement marquée dans l'échantillon de cultivars traditionnels de Côte d'Ivoire, fasse intervenir une sélection conservatrice de ce type.

Compte tenu de la forte pression de sélection humaine subie par les descripteurs botaniques, ceux-ci ne reflètent pas forcément bien l'organisation de la diversité sur l'ensemble du génome. Selon BOSTER (1985), cette pression de sélection est plus forte chez les espèces cultivées à reproduction conforme (clones ou lignées). Dans notre collection, la structuration de la diversité isozymique se retrouve non pas au niveau du premier axe de variabilité morphologique, mais au niveau du second. Il semble qu'on obtienne une meilleure image de la diversité génétique en donnant la priorité aux marqueurs enzymatiques, et en utilisant les descripteurs botaniques essentiellement pour affiner la classification au sein de chaque groupe défini à l'étape précedente.

Pour la réalisation d'un marquage génétique de caractères à déterminismes plus complexes, il serait nécessaire d'accroitre le nombre d'isozymes révélés afin de définir différents groupes de liaison. Chez la tomate, une carte génétique de ce type, exceptionnellement précise, avec plusieurs groupes de liaison sur chaque chromosome, a été utilisée pour le suivi du processus d'introgression de gènes sauvages (TANKSLEY & RICK, 1980), et le marquage de caractères d'intérêt agronomique (VALLEJOS & TANKSLEY,1983).

Malgré leurs avantages (simplicité des déterminismes génétiques mis en jeu, codominance, et neutralité), les marqueurs isozymiques tels que nous les avons exploités, c'est-à-dire au niveau qualitatif, ne représentent qu'une part infime du génome (ce choix était destiné à permettre l'étude d'un grand nombre d'échantillons). Cet échantillonnage n'est pas toujours représentatif: dans une étude de la variabilité génétique de 5 lignées de maïs, DAMERVAL et al. (1987) ont mis en évidence une corrélation significative (r=0,75) entre la distance génétique établie d'après les aptitudes générales à la combinaison sur 14 caractères morpho-agronomiques, et la distance obtenue d'après la diversité protéique quantitative révélée après électrophorèse bidimensionnelle; en revanche, aucune corrélation n'est établie entre chacune de ces distances et celle qu'ils ont calculé à partir de la diversité protéique qualitative.

Chez une plante à multiplication végétative comme le manioc, l'évaluation des génotypes sur la base de caractères morphologiques quantitatifs demande certaines précautions. En effet, la qualité de la bouture joue un rôle primordial sur le développement du plant (RAFAILLAC, comm. pers.). En particulier, la présence du virus de la mosaïque dans la bouture influe sur la croissance au stade jeune par une réduction précoce de la surface foliaire (RAFAILLAC & NEDELEC, 1987). Pour la mise en place d'un essai d'évaluation, il est nécessaire de disposer d'un parc à bois conduit de façon à homogénéiser les facteurs extra-génotypiques qui seront transmis par les boutures. Dans le cas d'une forte pression parasitaire, on peut faire appel aux techniques de thermothérapie sur des plants cultivés *in vitro* (FEREOL, 1978), l'indexation pouvant se faire par test ELISA, opérationnel chez le manioc (FARGETTE, 1985).

Une autre approche de la variabilité génétique passe par l'étude des relations du manioc avec ses pathogènes, dont la diversité a fait l'objet de plusieurs travaux. En Afrique, BOCK et al. (1981) ont mis en évidence plusieurs races sérologiques du virus de la mosaïque africaine du manioc. Récemment, GROUSSON (1986) et VERDIER (1988) ont défini 54 souches de X.campestris pv. manihotis qui différent par leur origine géographique, leur caractéristiques lysogéniques, leur pouvoir pathogène, et la présence de plasmides.

Enfin, le marquage direct des ADN nucléaires et cytoplasmiques, à l'aide d'enzymes de restriction ou de sondes moléculaires, permettrait d'obtenir une carte génétique détaillée des génomes exploités. Dans le cadre de l'amélioration variétale du manioc, les principaux domaines d'application de ces marqueurs concernent l'identification nucléo-cytoplasmique de plantes hybrides, le suivi de l'introgression, ou le marquage de caractères d'intérêt agronomique.

2°) Relations phylogénétiques entre les espèces du genre Manihot

ROGERS & APPAN (1972) ont souligné l'importance des imprécisions qui subsistent dans la classification taxonomique des espèces du genre *Manihot*. Les espèces sont décrites d'après les caractères observés sur des spécimens en herbier, ou, dans certains cas, sur des plantes en jardin botanique (ainsi la détermination de *M. glaziovii* était initialement basée sur la description d'un seul arbre, au Brésil), ou, plus rarement encore, sur des plantes observées *in situ*. Ces auteurs ont émis des doutes sur la nature de certains taxons utilisés en croisement avec *M. esculenta*: les descriptions très imprécises qui en sont données ne permettent pas toujours de les identifier avec certitude, et même, dans certains cas, elles paraissent assez contradictoires (c'est ainsi que *M.melanobasis* est finalement assimilé à *M. esculenta*).

En outre, la classification botanique des espèces est compliquée par l'existence de formes hybrides spontanées. On peut se demander si certaines "variétés" de M. glaziovii introduites en Afrique, qui présentaient des caractères de type cultivé tels que la forme des feuilles ou la tubérisation, n'étaient pas des hybrides M. esculenta x M. glaziovii, ou bien des représentants d'autres espèces.

Les études cytologiques de MAGOON et al. (1969) ont suggéré une origine allopolyploïde de l'espèce M. esculenta, cette hypothèse est confirmée ici par les marqueurs électrophorétiques. Toutes les espèces étudiées montrant le même niveau de ploïdie, l'allopolyploïdisation serait antérieure au processus de spéciation; le genre Manihot aurait donc une origine monophylétique. Ainsi, les mêmes duplications de gènes codant pour des protéines enzymatiques sont observées chez M. esculenta et M. glaziovii (ce résultat devra être confirmé sur des descendances plus larges, et en faisant appel à d'autres marqueurs).

L'isolement reproductif entre les espèces du genre *Manihot* est partiel. Certains géniteurs *M.esculenta* montrent une meilleure aptitude au croisement par *M. glaziovii*. Peu de graines sont obtenues, elles germent difficilement et certaines plantules sont chétives, mais les hybrides ayant surmonté ces barrières sont particulièrement vigoureux (c'est d'ailleurs en raison de cette vigueur que les hybrides interspécifiques spontanés ont été clonés et exploités comme arbres d'ombrage). On peut obtenir des hybrides F1 ayant un pollen fertile.

Au cours des générations ultérieures, on observe une limitation de la recombinaison intergénomique. Cette limitation s'exprime notamment au niveau de populations "F2", lorsque certains marqueurs isozymiques (a priori sélectivement neutres) présentent un retour vers le type cultivé, témoignant d'une contre-sélection des génotypes sauvages et recombinés. Malgré ces phénomènes sélectifs, il a été possible d'introgresser les gènes de résistance aux maladies de M.glaziovii chez M. esculenta. D'autres restrictions de recombinaisons ont été révélées lors de cette introgression: après plus de 20 ans de sélection pour la résistance à la mosaïque, les meilleures variétés se sont avérées être les plus résistantes à la bactériose lorsque la maladie est apparue, les 2 résistances étant génétiquement liées (JENNINGS, 1976; HAHN et al., 1980a). Selon JENNINGS (1978), la liaison met en jeu une situation de linkage entre les gènes responsables des deux résistances, ainsi que des effets pléïotropes. Cette liaison est d'autant plus forte qu'elle a résisté à 7 générations de contre-sélection des gènes sauvages autres que ceux de la résistance à la mosaïque.

Parallèlement, notre étude a montré la cohésion des gènes responsables des caractères de domestication, tels que l'aptitude au bouturage ou l'aptitude à la tubérisation, déjà acquis par certaines formes hybrides spontanées: ainsi le retour à un type cultivé est obtenu dés le 3° back-cross (NICHOLS, 1947; JENNINGS, 1957), au lieu de 5 à 8 back-cross nécessaires dans la plupart des combinaisons interspécifiques chez la pomme de terre (PERENNEC, 1982). L'existence de blocs de gènes peu recombinants serait à rapprocher de la situation développée chez le mil, autre plante allogame (PERNES et al., 1980; JOLY & SARR, 1985).

L'étude cytologique fine de MAGOON et al. (1970) révèle l'existence de microremaniements chromosomiques qui n'empêchent pas l'appariement. L'utilisation de marqueurs bien ciblés, isozymiques ou moléculaires, permettrait de suivre la recombinaison intergénomique au cours du processus d'introgression (on pourrait vérifier dans ce sens la nature de la forte liaison observée entre les marqueurs d'introgression PGDB3 et IDHA2 chez la variété V17).

3°) Diversification du manioc en Afrique

D'après les échantillons de collection étudiés, *M. esculenta* montre l'hétérozygotie d'une espèce allogame d'origine allopolyploïde. Depuis son introduction en Afrique, la diversité génétique semble s'y être réorganisée sous l'effet de différents facteurs évolutifs (LEFEVRE & CHARRIER, 1988).

Etant donné le niveau de variabilité auquel l'étude est située, le rôle de la mutation somatique est difficile à appréhender. On peut néanmoins penser que, comparativement à certaines plantes clonales comme l'ananas (PY et al., 1984) ou la banane (SIMMONDS, 1976), l'importance

de la reproduction sexuée (au moins 81 génotypes différents sont cultivés en Côte d'Ivoire) limite l'accumulation des mutations dans les tissus de la plante.

En plus de la recombinaison intraspécifique, un processus actif d'introgression entre *M.esculenta* et *M. glaziovii* s'est développé en Afrique, où les espèces sont en contact depuis moins d'un siècle, donnant naissance à un essaim d'hybrides diversifiés (parents variables et plusieurs générations d'hybridation). Les flux géniques sont favorisés du fait de la conservation des formes spontanées, par clonage, dans les zones habitées. Chez ces hybrides spontanés, la forte hétérozygotie de nombreux loci, aux côtés de loci à l'état homozygote *M. esculenta* (marqueurs isozymiques) et peut-être de loci à l'état homozygote *M. glaziovii* (gènes de résistance), suggère une origine complexe: F2, back-cross de 1° génération, back-cross ultérieurs, back-cross alternés... Puisque seulement 3 back-cross sont nécessaires pour revenir à un type cultivé, on peut s'attendre à rencontrer certains cultivars traditionnels de *M. esculenta* introgressés par *M. glaziovii*

Selon BYRNE (1984), l'extension de l'aire de culture du manioc serait liée à une diminution de l'isolement entre les parcelles. Ce phénomène se traduit par une distribution géographique uniforme des allozymes, et par l'absence de structuration unilocus (écart à la panmixie) sur le continent africain. Il semble donc que le manioc y soit soumis à des flux importants, même au niveau régional. Ces flux seraient en partie responsables de la rapidité de développement des maladies, en liaison avec l'extension et l'intensification de la culture. Les transferts de matériel végétal ont pu se faire sous forme de graines ou de boutures, ce dernier mode de multiplication donnant une assurance sur la nature du matériel transporté même si le coefficient de multiplication est faible, de l'ordre de 10 (le bois de bouturage récolté sur 1ha permet de replanter 10ha). En revanche, l'espèce M. glaziovii, qui n'est plus exploitée, ne semble pas avoir subi les mêmes flux intracontinentaux, et sa variabilité reste structurée vraisemblablement suivant les lieux d'introduction.

Enfin, un autre facteur de diversification important en Afrique provient de la pression de sélection parasitaire: certains cultivars traditionnels introduits sur la station d'Adiopodoumé ont fortement dégénéré dés le 2° cycle de bouturage. La pression de sélection est encore exceptionnelle sur cette station, mais la situation tend à se généraliser, et les cultivars s'adaptent ou disparaissent. L'efficacité de cette pression de sélection apparaît dans la mesure où tous les clones introduits récemment d'Amérique du Sud se sont révélés particulièrement sensibles à la mosaïque africaine (HAHN et al., 1980a).

En dépit de ces différents facteurs évolutifs, la diversité génétique du manioc en Afrique reste structurée en groupes de fort apparentement, que l'on peut interpréter comme des sources de variabilité, entre lesquels existent de nombreuses formes intermédiaires.

Les différentes origines introduites en Afrique sont restées cantonnées aux régions côtières pendant un à trois siècles (respectivement en Afrique de l'Est et en Afrique de l'Ouest), avant d'être mises en contact vers l'intérieur du continent. Les virologues ont montré l'importance de cette phase initiale (BOCK et al., 1981): deux races sérologiques du virus de la mosaïque africaine du manioc, qui n'existe pas sur le continent américain, se sont indépendamment inféodées à *M.esculenta* dans ses zones d'introduction. Leur distribution actuelle correspond aux régions parcourues par les origines du manioc lors de sa diffusion intracontinentale: la race CLV-T est présente de l'Afrique de l'Ouest à l'Ouest du Kenya dans la zone du rift, tandis que la race CLV-C est cantonnée à la zone côtière de l'Afrique de l'Est.

On peut considérer que la diversification de *M. esculenta* s'est faite en deux étapes. La première phase d'évolution, jusqu'au XIX° siècle, se serait caractérisée par des phénomènes de dérive liés à l'effet fondateur lors de l'introduction, et par une adaptation à des zones écologiques diverses. Depuis environ 150 ans, la seconde phase de diversification se caractériserait par une importante migration et des échanges géniques accrus, entre des groupes de cultivars qui ne sont plus géographiquement isolés, de nouvelles souches américaines introduites par les centres de sélection, et d'autres espèces du genre *Manihot* nouvellement introduites.

L'introduction de *M. glaziovii* a fait intervenir un très fort effet de fondation (en outre ce fut une introduction ponctuelle et non continue comme celle de l'espèce cultivée). L'espèce a finalement été disséminée sous forme de petites plantations, qui, abandonnées, continuent d'évoluer comme des populations autonomes, en conservant un certain isolement géographique.

Si en Inde la diversification secondaire du manioc semble également avoir été un processus actif (d'après ROGERS & APPAN, 1972, plus de 1.000 cultivars étaient cultivés dans les années 1970), la situation africaine se distingue de ce qu'on observe en Thailande ou en Amérique du Sud: en Thailande, le clone "Rayong I" introduit avant 1960 aurait été cultivé sur plus d'un million d'hectares vers la fin des années 1970 (SINTHUPRAMA, 1978). LOZANO et al. (1984) citent le cas du clone "Santa Catarina" sélectionné à Sao Paulo au début du siècle et couvrant plus de 300.000ha dans les années 1980; ou du clone "Secundina", en Colombie, qui a été cultivé sur 7.000ha pendant plus de 20 ans. Pour ces situations, il serait particulièrement intéressant d'étudier la variabilité intraclonale et son organisation, afin d'avoir une idée des facteurs de diversification, et notamment du rôle de la mutation.

4°) Gestion et exploitation des ressources génétiques africaines

4.1. Collecte et conservation des ressources génétiques

Etant donnée l'importance des facteurs de diversification de *M. esculenta* en Afrique, et plus particulièrement l'hybridation entre clones et les flux géniques avec *M. glaziovii*, la collecte des formes cultivées et spontanées doit être approfondie. Les problèmes phytosanitaires représentent un frein pour la circulation du matériel végétal et devraient être maitrisés (quarantaine pour les prospections, ou utilisation de vitroplants sains pour les échanges entre collection). La conservation et l'exploitation des ressources génétiques font appel à différentes biotechnologies (pour une revue, voir CHARRIER & LEFEVRE, 1987).

La diversité isozymique de *M. esculenta* est organisée en groupes apparentés. Dans la collection étudiée, la plupart de ces groupes figurent parmi les échantillons de cultivars traditionnels de Côte d'Ivoire qui représentent donc une variabilité importante; il est probable que tous les pays ne présentent pas la même diversité. L'analyse électrophorétique d'échantillons supplémentaires, en particulier d'Afrique de l'Est, d'Afrique Centrale, et d'Afrique Equatoriale, apporterait des précisions sur la distribution géographique à l'échelle du continent.

Des formes spontanées diverses peuvent être prélevées localement lors des collectes de cultivars de *M. esculenta*. En Côte d'Ivoire, les hybrides spontanés devraient être prospectés particulièrement dans les régions Centre et Sud-Est où nous avons rencontré la plupart des types morphologiques à localisation "ponctuelle".

En ce qui concerne l'espèce sauvage M. glaziovii, les prospections pourraient s'orienter dans un premier temps vers différentes régions géographiques que l'on peut supposer correspondre aux zones d'introduction (Nigéria, Centrafrique, Congo, Tanzanie, Madagascar, ...), afin de déterminer les éventuels centres de diversité. A une autre échelle, la collecte se faisant préférentiellement sous forme de graines, il serait également intéressant d'étudier l'organisation de la diversité dans de grandes populations "naturelles", du type de celle de Sikensi, afin d'optimiser l'échantillonnage intrapopulation.

Que ce soit pour le manioc cultivé ou les espèces sauvages, il est important de distinguer les collections de conservation des collections de travail, le matériel végétal destiné à la conservation étant déterminé d'après les données de l'évaluation.

Pour la conservation de la variabilité de *M. esculenta*, le maintien d'une collection vivante en plein champ est coûteux (surface, entretien, multiplication tous les 1 ou 2 ans, ...) et présente

des risques d'érosion, en raison de la dégénérescence clonale et des attaques parasitaires. On peut envisager une conservation par graines: ELLIS & ROBERTS (1984) ont montré que ces graines, non récalcitrantes, pouvaient être stockées, sèches, à -20°C, pendant un an sans perte de viabilité; les conditions doivent être évaluées pour une conservation fiable à plus long terme. Cette solution n'est pas adaptée au cas des clones non florifères ou stériles. La culture *in vitro* apporte une solution aux problèmes de conservation et de diffusion du matériel végétal. Pour la conservation à long terme, les techniques sophistiquées de cryoconservation pourraient être envisagées.

Pour 4 espèces sauvages collectées au Brésil, NASSAR (1979b) n'a pu obtenir la germination des graines échantillonées. Dans le cas de *M. glaziovii*, il paraît important d'accroitre le taux de germination afin d'éviter les pertes lors de la mise en collection. L'entretien de collections vivantes, chez cette espèce pérenne, est moins onéreux que celui d'une collection de manioc. On peut également envisager une conservation *in situ* des populations "naturelles". Les autres méthodologies sont également applicables.

Etant donnée la faible production de graines des hybrides spontanées, leur conservation doit s'orienter vers la mise en place d'une vitrothèque, ou le maintien d'une collection vivante régulièrement entretenue (certains génotypes vigoureux nécessitant plusieurs tailles annuelles).

4.2. Conséquences pour l'amélioration du manioc

La coexistence d'une reproduction sexuée et d'une multiplication par voie végétative permet d'envisager différentes voies d'amélioration du manioc. On restera ici dans la perspective de variétés clones, néanmoins la possibilité de diffuser des semences est à l'étude en Colombie (CIAT, 1985). La sélection au sein du pool des cultivars traditionnels, accompagnée de différentes techniques de sanitation (depuis la création de simples parcs à bois jusqu'à la thermothérapie de plants cultivés *in vitro*), peut conduire à une amélioration rapide dans les zones de culture où la pression parasitaire demeure faible. La recherche de nouvelles variétés peut suivre différentes orientations, exploitant les ressources tant intra qu'interspécifiques.

Les résultats obtenus révèlent une forte hétérozygotie chez *M. esculenta*. Parallèlement, KAWANO *et al.* (1978) ont observé une dépression de consanguinité, plus ou moins marquée suivant les génotypes autofécondés. La recherche d'un hétérosis pose le problème de l'estimation d'une divergence génétique (LEFORT-BUSON, 1985). Si les marqueurs biochimiques, tels que les isozymes, ne sont pas de bons prédicteurs de l'hétérosis (BRUNEL, 1985), l'image qu'ils donnent de la structuration de la diversité, après analyse multivariée, peut servir pour déterminer des groupes de génotypes fortement apparentés et ne retenir dans un programme de croisements que des génotypes suffisament éloignés.

D'après l'interprétation du déterminisme des marqueurs isozymiques, *M.esculenta* possède la structure génomique d'une espèce allotétraploïde, avec certains gènes dupliqués. Parallèlement à ce qui a été observé lors de l'introgression de gènes de *M. glaziovii*, on peut s'interroger sur l'importance des recombinaisons intragénomiques chez *M. esculenta* et sur la fréquence des remaniements chromosomiques, tels que les délétions, duplications ou inversions observées par JOS & NAIR (1979) sur un clone de manioc qui présentait des problèmes d'appariement à la méiose. L'étude des relations "intergénomiques" chez *M.esculenta* pourrait être approfondie par l'obtention de plantes haploïdes; actuellement, les tentatives de culture d'anthères n'ont pas abouti (pour une revue, voir ROCA, 1984). Au sein du genre *Helianthus*, JACKSON & MURRAY (1983) ont obtenu la formation de tétravalents par un traitement préméiotique à la colchicine, favorisant ainsi les recombinaisons "intergénomiques" chez 2 espèces présentant des signes d'une polyploïdie ancestrale.

Actuellement, à l'ITTA, l'amélioration variétale du manioc est basée sur un schéma de sélection récurrente, qui permet d'accroître le progrès génétique à long terme (HAHN et al., 1975). On peut également envisager un schéma de sélection récurrente réciproque, faisant, par exemple, intervenir des populations de cultivars d'origine africaine et américaine, (où, selon HAHN et al., 1980c, certains cultivars pourraient représenter une nouvelle source de résistance à la bactériose). Dans ce cas, la population de souche américaine devrait probablement être sélectionnée pour l'adaptation aux conditions africaines. Pour une sélection basée sur du matériel africain, l'étude de l'organisation de la diversité de M. esculenta devra être approfondie, sur un plus grand nombre d'échantillons et à l'aide de nouveaux marqueurs, afin de préciser la nature des groupes de cultivars CB et BONOUA définis dans cette étude. En particulier, les aptitudes à la combinaison pourraient être testées dans des croisements intra- et intergroupes.

Quel que soit le schéma de sélection envisagé, *M. glaziovii* peut contribuer efficacement à l'amélioration du manioc. Certains caractères, comme la résistance à la mosaïque, peuvent être transférés par back-cross successifs. Il est possible qu'une vigueur végétative puisse être acquise comme cela a été le cas, entre autres, chez la pomme de terre ou la fraise (HERMSEN, 1984). L'analyse du polymorphisme isozymique montre que *M. glaziovii* représente également un réservoir de variabilité, exploitable dans le cadre d'un schéma de sélection récurrente.

Afin de favoriser l'introgression, il serait intéressant de vérifier si le meilleur comportement en croisement avec M. glaziovii, observé pour une variété M. esculenta introgressée, est un caractère héritable. Les formes hybrides spontanées constituent un matériel de base intéressant pour le sélectionneur; leur exploitation demande une étude préalable du déterminisme de la barrière reproductive, pouvant conduire à l'obtention de génotypes recombinants, d'intégration plus facile dans un schéma de sélection. Tout en bénéficiant de la cohésion des gènes responsables des

caractères recherchés (liés au syndrôme de domestication ou aux résistances aux maladies), l'efficacité de telles introgressions, en terme de progrès génétique, dépend de l'importance des recombinaisons entre les génomes confrontés. Les techniques de culture *in vitro* d'embryons immatures pourraient constituer un outil performant pour limiter la sélection dans les premières générations. La fusion de protoplastes est une voie nouvelle envisageable pour l'obtention de plantes hybrides.

La recherche de variabilité nouvelle exploitable dans un schéma d'amélioration du manioc peut également faire appel à d'autres méthodologies:

- l'exploitation d'une variation somaclonale révélée après rajeunissement cellulaire en culture in vitro;
- les manipulations biotechnologiques, envisagées notamment dans le cadre de la lutte contre les maladies virales (ROCA et al., 1987);
- les modifications du niveau de ploïdie et la mutagénèse, qui n'ont pas encore eu d'application pratique (ABRAHAM, 1972).

CONCLUSION GENERALE

Cette étude globale met en évidence différentes sources de variabilité génétique disponibles pour l'amélioration du manioc en Afrique.

Le polymorphisme isozymique, étudié sur 365 échantillons, d'après 20 loci présumés, indique une forte hétérozygotie des cultivars de *M. esculenta*. Cette structure génétique est liée à un régime de reproduction essentiellement allogame, développé par une espèce d'origine allopolyploïde.

Une vision synthétique de l'organisation de la diversité, dans la collection de *M. esculenta*, a été obtenue après confrontation des informations botaniques et enzymatiques. On définit différents niveaux d'apparentement qui permettent d'isoler principalement deux groupes de génotypes fortement apparentés, entre lesquels figurent de nombreux intermédiaires. Ces deux groupes sont représentés sur tout le continent, mais leur répartition semble différente entre l'Est et l'Ouest de l'Afrique.

Des prospections, réalisées en Côte d'Ivoire, ont abouti à la mise en collection de 24 échantillons M. glaziovii et 85 hybrides interspécifiques spontanés. Les flux géniques entre M. esculenta et M. esculenta et M. esculenta et esculenta en esculenta et esculenta en e

Quelques hybrides interspécifiques contrôlés ont été obtenus par pollinisation manuelle. Les taux de réussite des croisements sont faibles et dépendent en partie du géniteur *M. esculenta* utilisé comme parent femelle. Des distorsions de ségrégation sont observées à la génération F2.

Le suivi des différentes étapes de l'introgression sur un cycle de 10 mois confirme l'existence de résistances multiples à la mosaïque africaine du manioc chez les formes spontanées. Les premières générations de retour vers le type cultivé ont déjà acquis une bonne aptitude au bouturage de tige et un début de tubérisation des racines; elles se caractérisent également par une vigueur végétative accrue.

Le manioc *M.esculenta* se prête aux schémas d'amélioration classiquement appliqués chez les espèces allogames, pouvant exploiter un pool génétique élargi aux espèces sauvages. Plusieurs points concernant l'organisation génomique de ces espèces restent à préciser. De nouvelles méthodologies s'avèrent nécessaires pour assurer la conservation des ressources génétiques et leur évaluation doit être approfondie par différentes approches.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- ALLEM, A.C., 1987: "Manihot esculenta is a native of the neotropics". Plant Genetic Resource Newsletter, 71, 22-24.
- ABRAHAM, A., 1972: "Breeding work on tapioca (cassava) and a few other tropical tuber crops". 2nd Int. Symp. on Trop. Root and Tuber Crops, Honolulu, Hawaï, Aug.1970, 1, 76-78.
- ANONYME, 1902: "Documents divers relatifs à la culture du *Manihot glaziovii*". Agriculture Pratique des Pays Chauds: Bulletin du Jardin Colonial et des Jardins d'Essai des Colonies Françaises, 5, 531-548.
- ANONYME, 1979: "Collected wild *Manihot* ssp. against various characteristics for which they were evaluated". Cassava Newsletter, 7, CIAT, Cali, Colombia.
- BAI, K.V., JOS, J.S. and NAIR, R.G., 1972: "Amphidiploidy in the genus *Manihot*". Chromosome Information Service, 13, 23-25. (cité in SILVESTRE P. & ARRAUDEAU M., 1983).
- BECK, B.D.A., 1982: "Historical perspectives of cassava breeding in Africa". in: Root Crops in Eastern Africa: Proc. of Workshop held in Kigali, Rwanda, 23-27 nov. 1980, Ottawa, Canada, IDRC-177ème, 13-18.
- BENZECRI, J.P., 1980: "L'analyse des données. Tome 1: La taxonomie". Dunod, 625p
- BERTHOU, F. et TROUSLOT, P., 1977: "L'analyse du polymorphisme enzymatique dans le genre *Coffea*: Adaptation d'une méthode d'électrophorèse en série; premiers résultats". 8ème Coll. Intern. ASIC, Abidjan, Côte d'Ivoire, 1977, 373-383.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J., and FIGUEIREDO, G., 1981: "A strain of cassava latent virus occurring in coastal districts of Kenya". Ann. Appl. Biol., 99, 151-159.
- BOLHUIS, G.G., 1953: "A survey of some attempts to breed cassava varieties with a high content of proteins in the roots". Euphytica 2, 2, 107-112.
- BOLHUIS, G.G., 1967: "Intra and interspecific crosses in the genus *Manihot*". 1st Int. Symp. on Trop. Root Crops, St Augustine (Trinidad) 2-8 April 67-1, 81-88.
- BORGET, M., 1952: "Note sur un essai de saignée du Ceara, *Manihot glaziovii* Muell. Arg., réalisé à la station de Boukoko (Oubangui)". Agronomie Tropicale, VII (4), 367-372.
- BOSTER, J.S., 1985: "Selection for perceptual distinctiveness: Evidence from Aguarana cultivars of *Manihot esculenta*". Economic Botany, 39 (3), 310-325.
- BROWN, A.H.D., 1979: "Enzyme polymorphism in plant populations". Theor. Pop. Biol., 15, 1-42.
- BRUIJN, G.H. (de), 1971: "Etude du caractère cyanogénétique du manioc (Manihot esculenta Crantz)". Thèse, Mendelingen Landbouwhogeschool, Wageningen, 140p.
- BRUNEL, D., 1985: "Utilisation des marqueurs moléculaires". In: "Les Distances Génétiques: Estimations et Applications". M. Lefort-Buson et D. De Vienne eds., INRA, Paris, 159-169.
- BRUNEL, D. and RODOLPHE, F., 1985: "Genetic neighbourhood structure in a population of *Picea abies* L.". Theor. Appl. Genet., 71, 101-110.
- BYRNE, D., 1984: "Breeding cassava". Plant Breeding Reviews, 2, 73-134.

- CHARRIER, A. et LEFEVRE, F., 1987: "La diversité génétique du manioc: Son origine, son évaluation et son utilisation". In: Actes Sém. Int.: La Mosaïque Africaine du Manioc et son contrôle. Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 4-7 mai 1987, 71-81.
- C.I.A.T., 1981: "Annual Report". Cali, Colombia.
- C.I.A.T., 1985: "Annual Report". Cali, Colombia.
- CHEVREAU, E., LESPINASSE, Y. and GALLET, M., 1985: "Inheritance of pollen enzymes and polyploid origin of apple (*Malus domestica* Borkh)". Theor. Appl. Genet., 71: 268-277.
- COCK, J.H., 1982: "Cassava: A basic energy source in the tropics". Science, 218: 755-762.
- COCK, J.H., FRANKLIN, D., SANDOVAL, G. and JURI, P., 1979: "The ideal cassava plant for maximum yield". Crop Sci., 19(2), 271-279.
- COLLINS, J.L., 1960: "The pineapple". Cité in PY, C. et al., 1984.
- COOPER, J.L. and JONES, A.T., 1983: "Responses of plants to viruses: Proposals for the use of terms". Phytopathology, 73(2), 127-128.
- COURS, G., 1951: "Le manioc à Madagascar". Mémoires de l'Institut Scientifique de Madagascar, série B, tome III, fascicule 2, 400 p.
- DAMERVAL, C., 1983: "Comparaison de six espèces de luzerne annuelles à l'aide de caractères biométriques et enzymatiques". Agronomie, 3, 10, 971-982.
- DAMERVAL, C., HEBERT, Y. and DE VIENNE, D., 1987: "Is the polymorphism of protein amounts related to phenotypic variability? A comparison of two-dimensional electrophoresis data with morphological traits in maize". Theor. Appl. Genet., 74, 194-202.
- DANIEL, J.F. and BOHER, B., 1985: "Epiphytic phase of Xanthomonas campestris pathovar manihotis on aerial parts of cassava". Agronomie, 5 (2): 111-116.
- DAHNIYA, M.T., 1987: "Cassava improvment in Sierra Leone". In: "Cassava Breeding: a multidisciplinary review". Proc. of a Workshop held in the Philippines, 4-7 mars 1985, C.H. Hershey ed., 120-126.
- ELLIS, R.H., and ROBERTS, E.H., 1984: "Recalcitrant Seeds Dormancy characteristics that can be misleading". In: "Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation". Eds J.H.W. Holden and J.T. Williams, IBPGR, Rome, Italy, 44-45.
- F.A.O., 1985: "Annuaire FAO de la production". Statistiques, 61, 38, 27.
- FARGETTE, D., 1985: "Epidémiologie de la mosaïque africaine du manioc en Côte d'Ivoire". Thèse, U.S.T.L., Montpellier, 203p.
- FENELON, J.P., 1981: "Qu'est-ce que l'analyse des données?". Lefonen, 311p.
- FEREOL, L., 1978: "Multiplication végétative et élimination des phénomènes de dégénérescence chez des clones de manioc (*Manihot esculenta* Crantz.) cultivés *in vitro*"". Thèse de 3ème cycle, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, 101p.
- GOLDRING, A., ZAMIR, D. and DEGANI, C., 1985: "Duplicated phosphoglucose isomerase genes in avocado". Theor. Appl. Genet., 71, 491-494.
- GOODMAN, M.M., STUBER, C.W., LEE, C.M. and JOHNSON, F.M., 1980a: "Genetic controle of malate deshydrogenase isozyme in maize". Genetics, 94, 153-168.

- GOODMAN, M.M., STUBER, C.W., NEWTON, K. and WEISSINGER, H.H., 1980b: "Linkage relationships of 19 enzymes loci in maize". Genetics, 96, 697-710.
- GOTTLIEB, L.D., 1977: "Evidence for duplication and divergence of the structural gene for phosphoglucoisomerase in diploïd species of *Clarkia*"). Genetics, 86, 289-307.
- GOTTLIEB, L.D., 1982: "Conservation and duplication of isozymes in plants". Science, 216, 373-380.
- GULICK, P., HERSHEY, C. and ESPINASSE ALCAZAR, R.J., 1983: "Genetic resources of cassava and wild relatives". IBPGR, AGPG: IBPGR, 82, 111, 56p.
- GRANER, E.A., 1942: "Genetica de *Manihot* I. Hereditariedade da forma da folha e da coloração da pelicula externa das raizes em *Manihot utilissima* Pohl". Bragantia, vol. 2, 13-22.
- GROUSSON, F., 1986: "Variabilité de Xanthomonas campestris pv. manihotis". Thèse de Docteur Ingénieur, INAPG, Paris, 142p.
- HAHN, S.K., 1978: "Breeding of cassava for resistance to cassava mosaic disease (CMD) and cassava bacterial blight (CBB) in Africa". in Diseases of Tropical Food Crops. Eds. H. Maraite and Y.A. Meyer. Proc. of an Int. Symp. held at U.C.L. Louvain-La-Neuve, Belgium 1978, 211-219.
- HAHN, S.K., 1982: "Research priorities, techniques and accomplishments in cassava breeding at IITA". Proc. of a Workshop held in Kigali, Rwanda, 23-27 nov. 1980, IDRC-177ème, 19-22.
- *HAHN, S.K., HOWLAND, A.K. and TERRY, E.R., 1975: "Cassava breeding at IITA". 3rd Symp. of Int. Soc. for Trop. Root Crops, Ibadan, Nigeria, 2-9 déc. 1973, 47p.
- HAHN, S.K., HOWLAND, A.K. and TERRY, E.R., 1980a: "Correlated resistance of cassava to mosaïc and bacterial blight diseases". Euphytica, 29(2), 305-311.
- HAHN, S.K., LEUSHNER, K., EZEILO, W., CARPENTER, A.J., KHATIBU, A.I. and CONSTANTIN, C.A., 1980b: "Resistance of cassava clones to cassava green mite, *Mononychellus tanajoa*". Tropical Pest Management, 26(3), 265-267.
- HAHN, S.K., TERRY, E.R. and LEUSHNER, K., 1980c: "Breeding cassava for resistance to cassava mosaïcs disease". Euphytica, 29(3), 673-683.
- HAHN, S.K. and THEBERGE, R.L., 1987: "Techniques and advances in breeding cassava for disease resistance in Africa". In: "Cassava Breeding: a multidisciplinary review". Proc. of a Workshop held in the Philippines, 4-7 mars 1985, C.H. Hershey ed., 105-115.
- HARLAN, J.R., 1971: "Agricultural origins: centers and non centers". Science, 174, 468-474.
- HAWKES, J.G., 1977: "The importance of wild germplasm in plant breeding". Euphytica, 26, 615-621.
- HENRY, Y., 1909: "Note sur le rendement du Ceara au Soudan". Agriculture Pratique des Pays Chauds: Bulletin du Jardin Colonial et des Jardins d'Essai des Colonies Françaises, 72, 250-254.
- HERMSEN, J.G.Th.,1984: "Some fundamental considerations on interspecific hybridization". Iowa State Journal of Research, 58, 4, 461-474.
- HERSHEY, C.H., 1984: "Breeding cassava for adaptation to stress condition: development of a methodology". 6th Symp. of Int. Soc. for Trop. Root Crops, Lima, Peru, 303-314.

- HERSHEY, C.H., 1987: "Cassava germplasm ressources". Cassava Breeding: a multidisciplinary review. Proc. of a W. held in the Philippines, 4-7 mars 1985, C.H. Hershey ed., 1-24. IITA, 1976: "Annual Report". Ibadan, Nigeria.
- INEAC, 1952: "La sélection des plantes vivrières à Yangambi: Le riz et le manioc". Bulletin d'information de l'INEAC, vol 1, 1, 37-54.
- JACKSON, R.C., and MURRAY, B.G., 1983: "Colchicine induced quadrivalent formation in *Helianthus*: Evidence of ancient polyploïdy". Theor. Appl. Genet., 64, 219-222.
- JENNINGS, D.L., 1957: "Further studies in breeding cassava for virus resistance". East. Afr. Agric. J., 22(4), 213-219.
- JENNINGS, D.L., 1959: "Manihot melanobasis Müll. Arg.: A usefull parent for cassava breeding". Euphytica, 8 (2), 157-162.
- JENNINGS, D.L., 1963: "Variation in pollen and ovule fertility in varieties of cassava, and the effect of interspecific crossing on fertility". Euphytica, 12 (1), 69-76.
- JENNINGS, D.L., 1972: "Cassava in East Africa". 2nd Int. Symp. on Trop. Root and Tuber Crops, Honolulu, Hawai, Aug.1970, 1, 64-65.
- JENNINGS, D.L., 1976: "Breeding for resistance to african cassava mosaïc disease: progress and prospects". In "African cassava mosaïc", report of an Interdisciplinary Workshop held at Muguga, Kenya, 19-22 Feb. 1976, 39-44.
- JENNINGS, D.L., 1978: "Inheritance of linked resistances to african cassava mosaic and bacterial blight diseases". Proc. Cassava Protection Workshop, CIAT, Cali, Colombie, 7-12 Nov. 1977, Série CE-14, 45-50.
- JOLY, H. and SARR, A., 1985: "Preferential association among characters in crosses between pearl millet (*Penissetum Typhoides*) and its wild relatives". In: "Genetic Differentiation and Dispersal in Plants", P. Jacquard *et al* eds, Springer-Verlag, Berlin, 95-111.
- JONES, W.O., 1959: "Manioc in Africa". Stanford University Press, 315p.
- JOS, J.S. and NAIR, S.G., 1979: "Pachytene pairing in relation to pollen fertility in five cultivars of cassava". Cytologia, 44, 813-820.
- KAWANO, K., 1980: "Cassava". In "Hybridization of Crops Plants". W.R. Fehr and H.H. Hadley eds., Amer. Soc. of Agr. and Crop Sci. Soc. of America, Madison, Wisconsin, 225-239.
- KAWANO, K., AMAYA, A., DAZA, P., and RIOS, M., 1978: "Factors affecting efficiency of hydridization and selection in cassava". Crop Sci., 18 (3), 373-376.
- KRISHNAN, R., MAGOON, M.L. and BAI, K.V., 1970: "The pachytene karyology of *Manihot glaziovii*". Genet. Iberica, 22, 177-191.
- LEFEVRE, F., et CHARRIER, A., 1988 : "La variabilité génétique du manioc en Afrique". In: "La Mosaique Africaine du Manioc", à paraître.
- LEFEVRE, F., et KOUAKOU, B., 1987: "Prospections de *Manihot glaziovii* Muell. Arg. en Côte d'Ivoire". Document multigraphié, ORSTOM, Abidjan, Côte d'Ivoire, 8p.
- LEFORT-BUSON, M., 1985: "Mise en évidence d'une relation entre hétérosis et divergence génétique". In: "Les Distances Génétiques: Estimations et Applications". M. Lefort-Buson et D. De Vienne eds., INRA, Paris, 111-119.

- LEON, J., 1977: "Origin, evolution and early dispersal of root and tuber crops". 4th Symp. of Int. Soc. for Trop. Root Crops, Cali, Colombie, 1-7 Aug.1976, 20-36.
- LESSIOS, H.A., 1981: "Divergence in allopatry: Molecular and morphological differentiation between sea urchins separated by the isthms of Panama". Evolution, 35, 618-634.
- LIAN, T.S., 1984: "G x E interactions, heritability estimates and varietal adaptability in important agronomic characters of cassava". MARDI Res. Bull., 12, 1, 136-147.
- LOZANO, J.C., BYRNE, D., and BELLOTTI, A., 1980: "Cassava: Ecosystem relationships and their influence on breeding strategy". Tropical Pest Management, 26 (2), 180-187.
- LOZANO, J.C., HERSHEY, C.H., and BELLOTTI, A., 1984: "A comprehensive breeding approach to pest and disease problems of cassava". 6th Symp. of Int. Soc. for Trop. Root Crops, Lima, Peru, 315-321.
- MAGOON, M.L., 1972: "Problems and prospects in the genetic improvement of cassava in India". 2nd Int. Symp. on Trop. Root and Tuber Crops, Honolulu, Hawaï, August 1970 1, 58-61.
- MAGOON, M.L., KRISHNAN, R., and BAI, R.K.V., 1969: "Morphology of the pachytene chromosomes and meiosis in *Manihot esculenta* Crantz". Cytologia, 34, 612-626.
- MAGOON, M.L., KRISHNAN, R., and BAI, R.K.V., 1970: "Cytogenetics of the F1 hybrid between cassava and Ceara rubber, and its backcross". Genetica, 41, 425-436.
- MARSHALL, D.R. and ALLARD, R.W., 1970: "Isozyme polymorphisms in natural populations of *Avena fatua* and *A.barbata*". Heredity, 25, 373-382.
- MARTINEZ-ZAPATER, J.M. and OLIVER, J.L., 1985: "Isozyme gene duplication in diploid and tetraploid potatoes". Theor. Appl. Genet, 70, 172-177.
- MIEGE, J. and MIEGE, M.N., 1954: "Recherches sur la stérilité chez le manioc". Revue de Cytologie et de Biologie Végétale, 15 (3), 179-194.
- NASSAR, N.M.A., 1978a: "Conservation of the genetic resources of cassava (*Manihot esculenta*): Determination of wild species localities with emphasis on probable origine". Economic Botany, 26, 352-360.
- NASSAR, N.M.A., 1978b: "Wild *Manihot* species of central Brazil for cassava breeding". Can. J. Plant. Sci., 58, 257-261.
- NASSAR N.M.A., 1978c: "Genetic resources of cassava: 4-chromosome behaviour in some wild *Manihot* species". Indian J. Genet. and Plant Breed., 38 (1), 135-137.
- NASSAR, N.M.A., 1979a: "Three brazilian *Manihot* species with tolerance to stress conditions". Can. J. Plant Sci., 59 (2), 553-555.
- NASSAR, N.M.A., 1979b: "The need for germplasm conservation in wild cassava". Indian J. Genet. and Plant Breed., 39 (3), 465-470.
- NASSAR, N.M.A., 1980: "Attempts to hydridize wild *Manihot* species with cassava". Economic Botany, 34 (1), 13-15.
- NASSAR, N.M.A., 1984: "Natural hydridization of *Manihot reptans* and *M. alutacea* in the state of Goias, Brazil and its bearing on cassava plant breeding". Indian J. Genet. and Plant Breed., 44 (1), 147-152.

- NASSAR, N.M.A., 1986: "Manihot neusana Nassar: Uma nova especie nativa do Parana, Brazil". Ciência e Cultura, 38 (2), 338-340.
- NASSAR, N.M.A., DA SILVA, J.R., and VIEIRA, C., 1986: "Hybridação interespecifica entre mandioca e especies silvestres de *Manihot*". Ciência e Cultura, 38 (6), 1050-1055.
- NEI, M., 1978: "Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals". Genetics, 89, 583-590.
- NICHOLS, R.F.W., 1947: "Breeding cassava for virus resistance". East African Agricultural Journal, 12, 3: 184-194.
- NOIROT, M., DESJARDIN, J., MULLON, M. et SAVY, L.: "N.D.M.S.: Logiciel de gestion et traitement statistique des données". LOGOR, ORSTOM, Paris, à paraître.
- PERENNEC, P., 1982: "Utilisation des espèces sauvages et des formes primitives dans l'amélioration de la pomme de terre". Le Sélectionneur Français, 30, 13-19.
- PERNES, J., NGUYEN VAN, E., BENINGA, M. et BELLIARD, J., 1980: "Analyse des relations entre formes spontanées et cultivées chez le Mil à chandelle (*Penissetum americanum* (L.), Leeke, *P. mollissimum* Hochst). II.-Etude de 3 familles F2 issues d'hybrides entre une plante d'un écotype de *Penissetum mollissimum* Hochst et 3 lignées de Mil cultivé, *Penissetum americanum* (L.), Leeke". Ann. Amél. Pl., 30 (3), 253-269.
- PY, C., LACOEUILHE, J.J., et TEISSON, C., 1984: "L'ananas, sa culture, ses produits". A.C.C.T. Maisonneuve et Larose eds., 562 p.
- RAFAILLAC, J.P., et NEDELEC, G., 1987: "Quelques effets de la mosaïque africaine du manioc (MAM) sur les premiers stades de croissance du manioc". In: Actes Sém. Int.: La Mosaïque Africaine du Manioc et son Contrôle. Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 4-7 mai 1987, 255-262.
- RAMIREZ, H., HUSSAIN, A., ROCA, W., and BUSHUK, W., 1987: "Isozyme electrophoregrams of sixteen enzymes in five tissues of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties". Euphytica, 36, 39-48.
- RENVOIZE, B.S., 1972: "The area of origin of *Manihot esculenta* as a crop plant: a review of the evidence". Economic Botany, 26, 352-360.
- RIVES, M., 1961: "Bases génétiques de la sélection clonale chez la vigne". Ann. Amél. Pl., 11(3), 337-348.
- ROCA, W.M., 1984: "Cassava". In: "Handbook of Plants Cell Culture". 269-301
- ROCA, W.M., SZABADOS, L., NARVAEZ, J. and JAYNES, J., 1987: "Non traditional techniques for genetic improvement of cassava". In: "Cassava Breeding: a multidisciplinary review". Proc. of a Workshop held in the Philippines, 4-7 mars 1985, C.H. Hershey ed., 1275-284.
- ROGERS, D.J., and APPAN, S.G., 1972: "Untapped genetic resources for cassava improvement". 2nd Int. Symp. on Trop. Root and Tuber Crops, Honolulu, Hawaï, August 1970-1, 72-75.
- ROGERS, D.J., and APPAN, S.G., 1973: "Manihot Manihotoïdes (Euphorbiaceae)". Flora Neotropica, Monograph 13, Hafner Press, New-York, 272p.
- ROGERS, D.J., and FLEMING, H., 1973: "A monograph of *Manihot esculenta* with explanation of taximetric methods used". Economic Botany, 27, 1, 5-113.

- SECOND, G. et TROUSLOT P., 1980: "Electrophorèse d'enzymes de riz (*Oryza sp*)". Travaux et documents de l'ORSTOM, n°120, 88p.
- SILVESTRE, P. et ARRAUDEAU, M., 1983: "Le manioc". A.C.C.T., collection: Techniques agricoles et productions tropicales, Maisonneuve et Larose ed., 263p.
- SIMMONDS, N.W., 1976: "Bananas". In "Evolution of Crop Plants". N.W. Simmonds ed, Longman, London and New York, 211-215.
- SINTHUPRAMA, S., 1978: "Varietal improvement of cassava in Thailand". In: Proc. of the W. on Cassava Production and Utilization, Knon Khaen University, Thailand. (Cité in LOZANO et al, 1984).
- SWAMINATHAN, M.S., MAGOON, M.L., and MEHRA, K.L., 1954: "A simple propiono-carmine PMC smear method for plants with small chromosomes". Indian J. Genet., 14, 87-88.
- TANKSLEY, S.D. and RICK, C.M., 1980: "Isozymic gene linkage map of tomato. Applications in genetics and breeding". Theor. Appl. Genet., 57, 161-170.
- TAVANTZIS, S.M., 1984: "The use of terms for responses of plants to viruses: A reply to recent proposals". Phytopathology, 74(4), 379-380.
- TURNER, B.S., 1974: "Genetic divergence of death valley pupfish species: Biochimical versus morphological evidence". Evolution, 28, 281-294.
- UGENT, D., POZORSKI, S., and POZORSKI, T., 1986: "Archaelogical manioc (Manihot) from coastal Peru". Economic Botany, 40(1), 78-102.
- UMEMURA, Y. and KAWANO, K., 1983: "Field assessment and inheritance of resistance to cassava bacterial blight". Crop Sci., 23 (6), 1127-1132.
- VALLEJOS, C.E. and TANKSLEY, S.D., 1983: "Segregation of isozyme markers and cold tolerance in a interspecific backcross of tomato". Theor. Appl. Genet., 66, 241-247.
- VAVILOV, N.I., 1951: "The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants". Chronica Botanica, vol.13, 364p.
- VERDIER, V., 1988: "Contribution à l'étude de la variabilité de Xanthomonas campestris pv. manihotis (Arthaud Berthet et Bondar) Starr. agent causal de la bactériose vasculaire du manioc (Manihot esculenta Crantz)". Thèse, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, 216p.
- VELT KAMP, H.J., 1986: "Physiological causes of yield variation in cassava (Manihot esculenta Crantz)". Agricultural University Wageningen Papers 85-6, 103p.
- VUILLEUMIER, B.S., 1971: "Pleistocene changes in the fauna and the flora of South America". Science, 173, 771-780.
- WEEDEN, N.F. and GOTTLIEB, L.D., 1979: "Distinguishing allozymes and isozymes of PGI by electrophoresis comparison of pollen and somatic tissues". Biochemical Genet., 17, n° 3-4, 287-292.
- ZOUNDJIHEKPON, J., 1983: "Rapport de mission de prospection de manioc, Manihot esculenta Crantz en Basse Côte d'Ivoire". Doc. ORSTOM multigraphié, Abidjan, Côte d'Ivoire, 7p.
- ZOUNDJIHEKPON, J., 1986: "Etude de la variabilité morphophysiologique et enzymatique de cultivars de *Manihot esculenta* Crantz". Thèse de 3ème cycle, F.A.S.T., Université Nationale de Côte d'Ivoire, n° 97, 120p.

- ZOUNDJIHEKPON, J. et TOURE, B., 1983: "Utilisation de la technique d'électrophorèse chez le manioc (*Manihot esculenta* Crantz) cultivé en champ et "*in vitro*". Ann. Univ. Abidjan, Série C, XIX, 213-220.
- ZOUNDJIHEKPON, J. et TOURE, B., 1985: "Polymorphisme enzymatique et hérédité de trois systèmes chez *Manihot esculenta* Crantz". 7th Symp. of Int. Soc. for Trop. Root Crops, 1-6 juillet 1985, INRA Petit-Bourg, Guadeloupe, 16p.

ANNEXES

ANNEXE I: Méthode de dosage qualitatif de la teneur en acide cyanhydrique (d'après SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983)

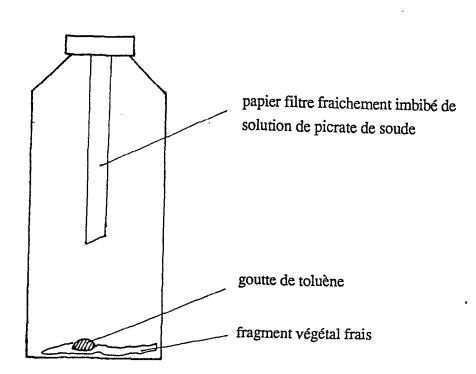
Solution de picrate de soude:

- solution de carbonate de soude à 5%

1 vol.

- solution d'acide picrique saturé (~1%)

1 vol.



ANNEXE II: Tampons d'extraction utilisés avant électrophorèse sur gel d'amidon

Tampon "feuilles" (BERTHOU & TROUSLOT, 1977)

- Tris (hydroxyméthyl) aminométhane	0,1 M
- E.D.T.A.	0,3 mM
- CN-	1 %
- ß Mercapto-éthanol	0,4 M
- acide ascorbique	0,25 M
- Tris HCl pH8,5	0,25 M

ajuster à pH 7,1

Tampon "pollen" (WEEDEN & GOTTLIEB, 1979)

- Tris (hydroxymethyl) aminomethane	0,05 M
- E.D.T.A.	0,2 mM
- B Mercapto-éthanol	14 mM

ANNEXE III: Les principaux zymogrammes observés chez Manihot esculenta et Manihot glaziovii, leur description et leur interprétation

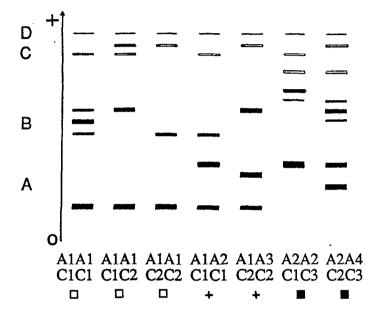
: M. esculenta (sauf variétés introgressées)

■ : M.glaziovii

+ : hybrides interspécifiques



EST



Description:

- Les estérases sont sensibles à la qualité de l'extrait, et les zymogrammes peuvent être illisibles pour des feuilles fortement virosées ou prélevées sur un apex attaqué par les cocheniles;
- les α et β estérases sont révélées simultanément;
- on distingue 4 niveaux de migration; les niveaux A et C présentent 1 ou 2 bandes; les niveaux B (bandes diffuses) et D (faible activité) ne sont pas pris en compte.

Remarque: lorsque la migration n'est pas assez longue, la présence d'une bande D au niveau de la bande C2 ne permet plus de distinguer les génotypes C1C1 et C1C2

Interprétation:

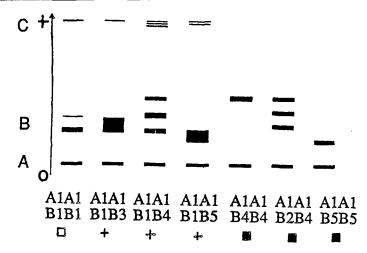
- Les bandes considérées correspondent à des protéines monomériques codées par deux loci

	nombre d'alléles		
	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
ESTA	1	3	0 .
ESTC	2	3 .	2

Bibliographie: ZOUNDJIHEKPON & TOURE (1985)

Glutamate oxaloacétate transaminase

GOT



Description:

- On distingue 3 niveaux de migration;
- le niveau A présente une bande large, parfois dédoublée; chez certains génotypes, le dédoublement n'est pas stable, et pourrait être dû à la formation d'isozymes secondaires, on n'en tient pas compte ici;
- le niveau B est monomorphe chez *M.esculenta*, avec 2 bandes dont une fine, il est composé de 1 à 3 bandes chez *M.glaziovii* et les hybrides interspécifiques;
- le niveau C, de faible activité, n'est pas toujours révélé.

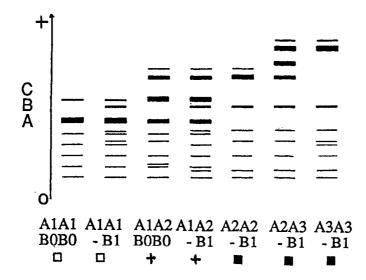
Interprétation:

- Protéine dimérique, codée par au moins 2 loci.

	nombre d'alléles		
	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
GOTA	1	1	1
GOTB	1	4	0

Isocitrate déshydrogénase

IDH



Description:

- Les zymogrammes d'IDH sont complexes; suivant la qualité de l'extrait, des bandes lentes, fines, en nombre variable peuvent apparaître, on n'en tient pas compte ici; de manière répétable, on distingue 3 niveaux de migration chevauchants;
- le niveau A est constitué d'une ou trois bandes épaisses; le niveau B est représenté par une bande fine parfois absente chez M.esculenta; le niveau C, constitué d'une bande fine masquée dans les zymogrammes de type A1A2, n'est pas pris en compte.

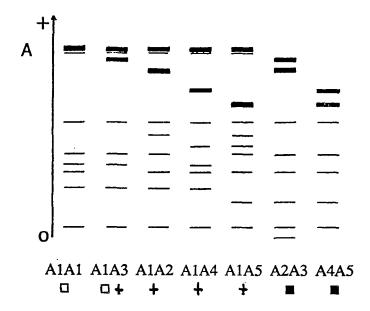
Interprétation:

- Protéine dimérique codée par au moins 2 loci.

	nombre d'alléles		
	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
IDHA	1	2	0
IDHB	2*	1	2
			(*: dont un allèle nul)

Leucine amino-peptidase

LAP



Description:

- Les zymogrammes de LAP se composent d'un niveau de bandes rapides, et d'au moins 4 niveaux de bandes plus lentes, très faiblement actives; on ne tient compte que du niveau rapide constitué d'une ou deux bandes épaisses, parfois accompagnées d'une bande fine.

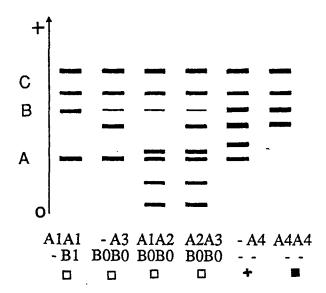
Interprétation:

- La bande considérée correspond à une protéine monomérique codée par un gène.

	nombre d'alléles		
	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
LAPA	2	4	1

Malate déshydrogénase

MDH



Description:

- On distingue 3 niveaux de migration; le niveau A comprend une ou trois bandes; le niveau B est constitué d'une bande large, présente ou absente, située au niveau d'une bande fine toujours présente; le niveau C est monomorphe constitué de deux bandes;
- chez certains génotypes, on observe des bandes intermédiaires entre les bandes A et la bande la plus lente du niveau C.

Interprétation:

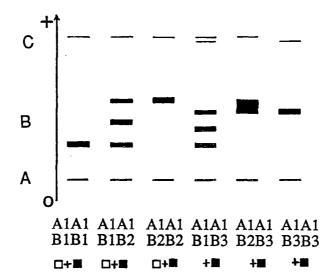
- Protéine dimérique codée par 3 loci;
- un isozyme issu de C peut s'hybrider avec les produits des allèles A3 et A2 chez *M. esculenta* (on ne peut conclure sur l'hybridation avec l'allèle A4 de *M. glaziovii*, celle-ci pouvant être masquée par une éventuelle bande B).

	nombre d'alléles		
	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
MDHA	3	1	0
MDHB	2*	-	-
MDHC	1	1	1
			(*: dont un allèle nul)

Bibliographie: ZOUNDJIHEKPON & TOURE (1985)

Phosphatases acides

PAC



Description:

- Les PAC sont très sensibles à la qualité de l'extrait;
- on distingue 3 niveaux de migration; le niveau A est monomorphe; le niveau B se compose de une à trois bandes; le niveau C, plus rapide, est très faiblement actif et n'est pas pris en compte.

Interprétation:

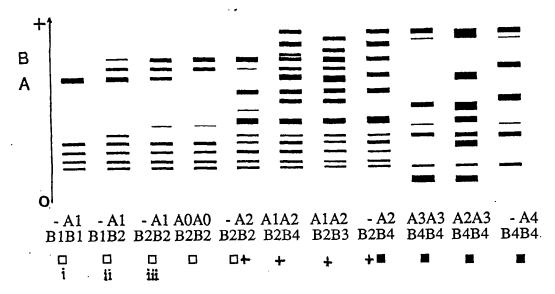
- Protéine dimérique codée par au moins 2 loci.

	nombre d'allèles		
	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
PACA	1	1	1
PACB	2	3	2

Bibliographie: ZOUNDJIHEKPON & TOURE (1985)

Phospho-gluconate déshydrogénase

PGD



Description:

- Les zymogrammes des PGD sont les plus complexes, les bandes sont fines et nombreuses, et la qualité de migration est primordiale; néanmoins les zymogrammes sont stables, et la qualité de l'extrait ne joue que sur l'activité globale de l'ensemble des bandes; les différences d'activité entre bandes d'un même zymogramme sont répétables;
- on distingue 2 zones de migration; l'interprétation ne porte que sur les bandes rapides (les bandes lentes sont généralement déformées par le front de migration)
- les zymogrammes observés sont composés de une à neuf bandes.

Interprétation:

- Pour interpréter la zone de migration rapide chez M. esculenta, il est nécessaire de faire intervenir 2 loci dont les produits peuvent s'hybrider:

iii x iii -> iii

i x iii -> ii

 $ii \times ii \rightarrow i + ii + iii$ (voir annexe IV);

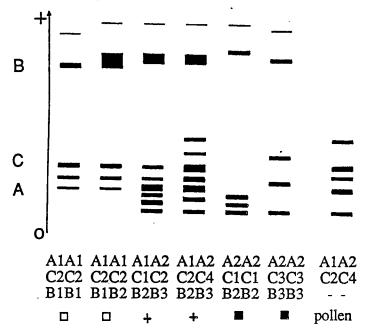
- protéine dimérique codée par au moins 3 loci dont deux sont pris en compte.

nombre d'alléles

	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
PGDA	3*	3	1
PGDB	2	3	1
			(*: dont un allèle nul)

Phospho-glucose isomérase

PGI



Description:

- Les zymogrammes se composent de 2 niveaux de migration; le niveau rapide est constitué d'une zone d'activité parfois très épaisse; on distingue de deux à sept bandes lentes;
- les extraits de pollen ne présentent pas de bandes rapides, certaines des bandes lentes disparaissent également.

Interprétation:

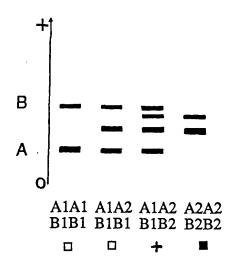
- Protéine dimérique codée par 3 loci; les extraits de tissus haploïdes montrent l'existence de bandes hétérodimères entre les loci codant pour les bandes les plus lentes;
- les isozymes rapides, n'apparaissant pas dans le pollen, sont vraisemblablement localisés dans les plastes.

	nombre d'allèles		
	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
PGIA	. 1	1	0
PGIC	1	4	1
PGIB	2	2	1

Bibliographie: ZOUNDJIHEKPON & TOURE (1985)

Phosphoglucomutase

PGM



Description:

- Les PGM présentent deux niveaux de migration; le niveau A est composé de une ou deux bandes chez *M. esculenta*; le niveau B est composé de deux bandes chez les hybrides interspécifiques.

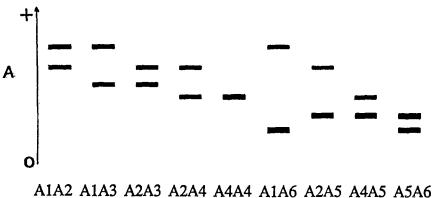
Interprétation:

- Protéine monomérique codée par 2 loci.

•	nombre d'alléles		
<i>,</i> •	M. esculenta	M. glaziovii	dont communs
PGMA	2	1	1
PGMB	1	1	0

Shikimate déshydrogénase

SKDH



ATAZ ATAS AZAS AZA4 A4A4 ATAO AZAS A4AS ASAO

Description:

- On observe un seul niveau de migration composé de une ou deux bandes; les bandes de *M. glaziovii*, plus lentes, sont également plus actives que celles de *M. esculenta*.

Interprétation:

- Protéine monomérique codée par 1 locus.

nombre d'alléles

M. esculenta M. glaziovii dont communs

SKDHA 4 3 1

ANNEXE IV: Ségrégations obtenues dans les descendances issues de fécondation contrôlée

I. Descripteurs morphologiques de la racine

		PHE	NOTYPES	
	CROISEMENT	PARENTS	DESCENDANCES	χ2
Coloration de l'épiderme	53 x V17	2 x 2	1: 13 2: 29	(3:1) 0,79 -
1: marron clair	V7 x V22	2 x 2	1: 6 2: 20	(3:1) 0,05 -
2: marron foncé	V7 x V17	2 x 2	1:9 2:26	(3:1) 0,01 -
	53 x V22	2 x 2	1: 9 2: 27	(3:1) 0,00 -
Coloration du phelloderme	41 x 41	2 x 2	1: 15 2: 4	
1: blanc	41 x 43	2 x 1	1:27 2:5	
2: rose	53 x 41	1 x 2	1: 35 2: 13	e.
	V7 x V22	1 x 2	1: 21 2: 5	
	53 x V22	1 x 2	1: 24 2: 12	
	402 x 402	2 x 2	1: 2 2: 13	

ANNEXE IV: (suite)

II. Marqueurs enzymatiques

(on regroupe les descendants d'un même individu hétérozygote croisé avec plusieurs génotypes homozygotes)

1. Allèles de Manihot esculenta

LOCUS	GENOTYPES						i	
	CROISEMENT	PARENTS	DESCENDA	WCE.			X2	
ESTC	V7 x V22	C1C1 x C1C2	C1C1:16	C1C2:10			1,38	-
IDHB	41 x 41	B0B1 x B0B1	B0B0: 6	-B1: 13			0,44	
	53 x 41	B0B1 x B0B1	B0B0: 16	-B1: 32			1,78	-
	53 x V17	B0B1 x B0B0	B0B0: 22	B0B1: 20			0,10	-
)	402 x V17	B0B1 x B0B0	B0B0: 7	B0B1:7			0,00	•
	V7 x V22	B0B1 x B0B1	B0B0: 13	-B1: 13			8,67	+ +
	V22 x V22	B0B1 x B0B1	B0B0: 3	-B1: 6_			0,33	-
LAPA	402 x 402	E1E3 x E1E3	E1E1: 6	E1E3: 9	E3E3: 4		0,50	-
	402 x V17	E1E3 x E1E1	E1E1: 6	E1E3: 8			0,29	
MDHA	(41 + 53) x 43	x A2A3	-A2: 33	-A3: 61			8,34 *	*
	41 x 41	A1A3 x A1A3	A1A1: 7	-A3: 12			1,42	-
	53 x V22	A1A3 x A1A3	A1A1: 10	-A3: 31			0,23	-
	53 x V17	A1A3 x A1A3	A1A1: 8	-A3: 34			0,79	-
	V3 x V22	A1A3 x A1A3	A1A1: 1	-A3: 9			1,20	-
	V7 x V22	A1A3 x A1A3	A1A1: 6	-A3: 20			0,05	-
<u>;</u>	V7 x V17	A1A3 x A1A3	A1A1: 9	-A3: 30			0,08	•
	V22 x V22	A1A3 x A1A3	A1A1: 2	-A3: 7			0,04	-
MDHB	$(53 + V7) \times V17$	B0B0 x B0B1	B0B0: 42	B0B1: 39			0,11	-
	(53 + V3 + V7) x V22	B0B0 x B0B1	B0B0: 36	B0B1: 41		-	0,32	-
	402 x 402	B0B1 x B0B1	B0B0: 3	-B1: 16			0,90	-
	402 x V17	B0B1 x B0B1	B0B0: 6	-B1: 8			2,38	-
	V22 x V22	B0B1 x B0B1	B0B0: 0	-B1: 9			3,00	•
PACB	V7 x V17	B1B2 x B1B2	B1B1: 10	B1B2: 13	B2B2: 3		3,77	
PGDA	V7 x V17	A0A1 x A0A1	A0A0: 15	-A1: 24			3,69	
PGDB	(41 + 53) x 43	x B1B2	-B1: 61	-B2: 33		-	8,34 *	*
	V3 x V22	B1B2 x B1B2	B1B1: 2	B1B2: 4	B2B2: 4		1,20	-
	V7 x V22	B2B2 x B1B2	B1B2: 11	B2B2: 15			0,62	-
	V22 x V22	B1B2 x B1B2	B1B1: 2	B1B2: 4	B2B2: 3		0,31	
PGMA	V7 x V22	A1A1 x A1A2		A1A2: 10			1,38	-
	V22 x V22	A1A2 x A1A2	A1A1: 3		A2A2: 1		1,00	
SKDHA	41 x 43	A2A3 x A2A3		A2A3: 14			1,50	-
İ	402 x 402	A1A4 x A1A4	A1A1: 5	A1A4: 11	A4A4: 3		0,38	-
	53 x V17	A2A3 x A2A3	A2A2: 12	A2A3: 17	A3A3: 13		1,57	-
	53 x V22	A2A3 x A2A2	A2A2: 19	A2A3: 22			0,22	•
1	402 x V17	A1A4 x A2A3	A1A2: 4	A1A3: 2	A2A4: 4	A3A4: 4	0,86	-
	V3 X V22	A2A4 x A2A2	A2A2: 5	A2A4: 5			0,00	-
ľ	V7 x V17	A2A4 x A2A3	A2A2: 10	A2A3: 7	A2A4: 6	A3A4: 16	6,23	-
	V7 x V22	A2A4 x A2A2	A2A2: 13	A2A4: 13			0,00	_

ANNEXE IV: (suite)

2. Allèles de Manihot glaziovii

(descendances de variétés introgressées ou de croisements interspécifiques)

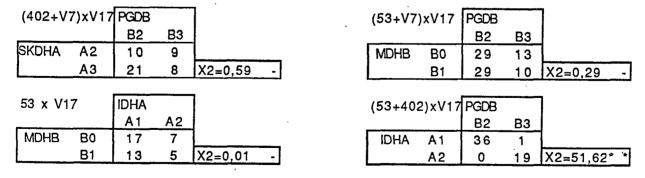
LOCUS	GENOTYPES							\neg
	CROISEMENT	PARENTS	DESCENDA	NCE ·			X2	
GOTB	402 x 402	B1B3 x B1B3	B1B1: 3	B1B3; 10	B3B3: 6		1,00	
	402 x G113B	B1B3 x B2B4	B1B2: 1	B1B4: 0	B2B3: 1	B3B4: 8	16,40	•
IDH	(53 + 402) x V17	A1A1 x A1A2	A1A1: 37	A1A2: 19			5,79*	•
	V7 x V22	A1A2 x A1A1	A1A1: 12	A1A2: 15			0,33	-]
	V7 x V17	A1A2 x A1A2	A1A1: 10	A1A2: 25	A2A2: 4		4,95_	\
LAPA	402 x G113B	E1E3 x E4E4	E1E4: 4	E3E4: 6			0,40	\Box
PACB	402 x G113B	B1B2 x B1B2	B1B1: 2	B1B2: 4	B2B2: 4		2,00	-
PGDB	(53 + 402 + V7) x V17	x B2B3	-B2: 65	-B3: 30			12,89*	*
SKDHA	402 x G113B	A1A4 x A5A5	A1A5: 5	A4A5: 5			0,00	\exists

ANNEXE V: Liaisons entre les marqueurs isozymiques (on regroupe les descendants d'un même individu hétérozygote croisé avec plusieurs génotypes homozygotes)

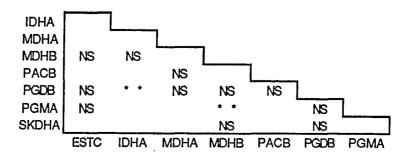
1. Allèles de Manihot esculenta

				3						
V7 x V1	7	MDHB			(53+V7))xV22	ESTC			
		B0_	B1				C1	C2		
SKDHA	A2	7	9		PGMA	A1	22	13		
<u> </u>	АЗ	11	12	X2=0,05 -		A2_	16	12	X2=0,22	
									•	
(53+V7)	xV22	MDHB			(53+V7)	xV22	PGDB		ļ	
		B0	B1	,			B1	B2	}	
PGMA	A1	4	30		PGMA	A 1	13	21		
	A2	24	6	X2=30,29* *	<u> </u>	A2	12	17	X2=0,07]
				•						
(53+V7)	xV22	MDHB		ļ	(53+V7)	xV22	PGDB			
		B0_	B1				B1	B2		
ESTC	C1	15	23		ESTC	C1	17	21		
	C2	13	15	X2=0,31 -		C2	10	17	X2=0,38	
				_						
(53+V7)	xV22	MDHB			(41+53)	x43	PGDB			
		B0_	B1_				B1	B2		
PGDB	B1	10	16		MDHA	A3	36	23		
	B2	19_	21	X2=0,51 -	L	A2	24	9	X2=1,30	-
_				,		•				
41 x 43		PACB			41 x 43		PACB			
,		B1	B2				B1	B2_		
MDHA	A2	5	6	·	PGDB	B1	10	10		
	АЗ	13	8	X2=0,81 -		B2	8	4	X2=0,85	
										

2. Allèles de Manihot glaziovii (descendances de variétés introgressées)



3. Tableau récapitulatif



ANNEXE VI: Taux de réussite des croisements contrôlés intra- et interspécifiques

Test des hypothèses: H1 - "la variable {C-F; F0; F1; F2; F3} suit une loi binômiale de paramètre G/3C"; soit un seul paramètre suffit à expliquer le nombre de graines obtenues par fleur femelle pollinisée

H2 - "la variable {F0; F1; F2; F3} suit une loi binômiale de paramètre G/3F", ce qui revient à considérer 2 paramètres pour exprimer la réussite des croisements, le taux de nouaison F/C et le taux de remplissage des fruits obtenus

C: nombre de croisements réalisés (fleurs femelles pollinisées)

Fi (i=0 à 3): nombre de fruits à i graines (F= nombre total de fruits)

G: nombre total de graines

1. Croisements intraspécifiques

	V22 x V22	V7 x V22	V7 x V17	402 x 402	53 x V17	402 x V17	53 X V22
C-F	245	79	362	284	237	405	135
F0	0	0.	0	0	0	Ó	0
F1	4	7	7	2	0	1	0
F2	9	7	13	17	11	5	8
F3	· 3	9	22	27	21	15	29
G/3F	0,65	0,70	0,79	0,85	0,89	0,89	0,93
H1	• •	* *	* *	* *	* *	• •	* *
H2	-	-	•	-	-	-	-

2. Croisements interspécifiques

	V7 x H69	V7 x G113B	H57 x H69	402 x G113B
C-F	122	336	191	299
F0	10	2	2	1
F1	2	7	5	0
F2	0	1 1	5	2
F3	0	1	0	10
G/3F	0,06	0,37	0,42	0,87
H1	* *	• •	* *	* *
H2	-	<u> </u>	-	-

ANNEXE VII: La collection de formes sauvages de Manihot

CODE	N°	<u> </u>	ORIGINE	ECH
ļ H	1	RCI	(EBRIE)	С
H	3	1111	****	С
H	4	****	1111	С
H	5	1111	***	С
H	8	***	1111	С
H	9	****	***	C
H	10	1111	1111	C
H	11	1707	***	Ċ
Н	12	***	****	c
H	15	DOL	ADIOLIZDOLI)	
Į:		"" "Ol(ADIOUKROU)	С
H	16	D01	(ADLADID II)	С
Н	17	HCI	(ADI.ABIDJI)	С
H	18	****		С
ļΗ	19	***	110	С
H	21	RCI	(ADIOUKROU)	С
H	22	RCI	(BAOULE)	С
Н	2.3	RCI	(ABIDJI)	С
ŀ н	24	1111	1111	С
H	25	00	****	С
Н	26	""	1111	С
Н	27	""	1919	Ċ
Н	28	""	****	Ċ
Н	29	RCI	(MALINKE)	c
. H	30	RCI	(BAOULE)	C
Н	31	""	(B/(OCLE)	C
G	32	RCI	(EBRIE)	D
G	33	1101	(LD: (IL)	D
Н	35	RCI	(ABOURE)	C
Н	36	un	""	C
Н	51	RCI	(AGNI)	С
Н	54	RCI	(KOULANGO)	С
Н	55	RCI	(ABRON)	С
Н	56	****	1111	С
H	57	RCI	(AGNI-ABR.)	С
Н	58	RCI	(AGNI)	С
Н	62	RCI	(ATTIE)	С
Н	63	1111		С
Н	64	***	1711	С
Н	66	RCI	(ATTIE-ABE)	С
Н	67		(ATTIE-ABE)	C
Н	68		(ABE-EBRIE)	C
Н	69	RCI	(ATTIE)	C
	70	""	(//////////////////////////////////////	C
H	71	***	***	C
H	72	***	1111	0
Н	73	1110	711	<u> </u>
H		DO!	(BAOLILE)	C C C
H	76 79	RCI	(BAOULE)	C
Н	79 80	***	1111	C
Н	81	***		C
Н	82	1111	1111	C
Н	86	n#	****	C
Н	87	***	***	С
Н	89	1111	011	C
Ц	an	***	1941	C

CODE	N°	Τ-	ORIGINE	ECH
H	91	1 100	OT HOUSE	C
H	92	1117	1144	
;;	93	1111	1111	C
Н		****	1111	С
F	94	001	(COLIDO)	0
H	96	RCI	(GOURO)	С
H	98			С
H	99			С
G	101	RCI	(BETE)	D
H	102	***		С
H	103		""	С
Н	104			С
Н	105	RCI	(DIDA)	С
Н	106	1111	1111	С
Н	108	RCI	(ABIDJI)	С
Н	109	1117	***	С
G	113	1949	""	D
Н	117	RCI	(BETE)	С
Н	118	1111	1181	С
Н	119	un	***	С
Н	123	***	***	С
Н	124	***	****	С
G	127	RCI	(YACOUBA)	D
G	128	""	(D
G	130	1111	****	D
G	131	1111	44	D
Н	132	RÇI	(MAOU)	C
H	133	RCI	(MAOU)	C
G	135	RCI	(MALINKE)	D
Н	138	""	(10175114175)	C
H	142	DCI/E	BETE-GOURO)	C
Н	143	1111 1111	""	C
Н	145	RCI	(GOURO)	С
Н	147	RCI	(BAOULE)	С
Н	148	***	""	C
Н	150	RCI	(EBRIE)	C
G	151	RCI	(ABIDJI)	D
G	152	""	(,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	D
Н	153	RCI	?	c
G	154	RCI	(ABIDJI)	Č
G	155	ни	(7 (2)201)	Ċ
G	157	***	1117	c
G	158	na	****	C
G	159	1149	****	С
G	160		****	C
G	161	***	***	C
G	162	1941	un	C
G	163		TOGO	D
G	164		1000	D
G			un	
	165	D0:		D
G	166	RCI	(SENOUFO)	D
G	167			D
Н	168	GUINI	EE CONAKRY	C
Н	169		1117	C
<u>H</u> _	170	##		С

CODE:

ORIGINE: ECH:

G - Manihot glaziovii
H - Hybride spontané Manihot esculenta x Manihot glaziovii
Pays (région ethnique)
Nature de l'échantillon
C - clone
D - descendance (chaque descendant est alors repéré par une lettre majuscule: G113A, G113B,...)

ANNEXE VIII: Liste des échantillons étudiés dans l'analyse de la diversité au chapitre III

	•	Diversité	Diversité
	N°	morphologique	enzymatique
M. esculenta	1		+
	5		+
	24	+ +	+
	31	т	+
	36	+	· +
	50	'	+
	53		+
	58		+
	67		+
•	147	+	+
	175	·	+
	270	+	. +
	302	+	` +
	316	·	+
	353	+	+
	379	+	+
	395	+	+
	402	+	+
	V7		+
	V13		+
	V14		+
	V17	•	+
	V22	-	+
•	V28		+
	V48		+
Hybrides	H1	+	+
	НЗ	+	+
interspécifiques	H29	+	+
spontanés	H35	+	+
	H57	+	+
	Н69	+	+
	H71	+	+
	Н80	+	+
	H82	+	+
	H109	+	+
M.glaziovii	G32	· +	++
J	G33		++
	G101	+	+
	G113		+++
	G127		++
	G128	+	+
	G130	+	+++
	G131	+	++
	G135	+	
	G152		++
	G155		+ +
	G157	+	+
	G158		+
	G159 G160	+	+
	G160 G162	+	•
	G162 G164	+	
	G167	· .	++
	4=4.		

ANNEXE IX: Précipitations mensuelles (mm), et rayonnement global journalier (J/cm²/j), sur la station météorologique d'Adiopodoumé, pour l'année 1987.

