SECTION A

Apports des biotechnologies, de l'amélioration des plantes et de leur intégration dans des programmes de sélection.

Enjeux pour la sécurité alimentaire.

Communications orales A1 à A18

A1 : La sécurité alimentaire mondiale à l'horizon 2010

AZOULAY G.
Faculté Jean Monnet, Université Paris Sud, 91405 ORSAY Cedex

La question de la capacité de la planète à nourrir ses habitants a retrouvé, à l'occasion du Sommet Mondial de l'Alimentation en 1996, une actualité nouvelle. De nouvelles inquiétudes sont apparues quant aux évolutions futures de l'offre et de la demande alimentaires mondiales dans le contexte de libéralisation croissante des échanges et de réduction de la fonction de régulation de l'État.

La question est aujourd'hui de penser les scénarios possibles d'évolution de la sécurité alimentaire mondiale à l'horizon 2010 et les formes d'organisation de l'économie mondiale agricole. Quel type de scénario va se mettre en place dans le cadre du processus de globalisation pour parvenir à répondre aux besoins alimentaires et nutritionnels de tous les habitants de la planète?

L'exceptionnel développement de la production de biens alimentaires qu'a connu le monde dans les 50 dernières années n'a pas mis fin au problème de la faim. La planète continue de ne pas nourrir tous ses habitants : 800 millions de personnes situées essentiellement en Afrique et en Asie souffrent de sous-alimentation (FAO, 1995).

La malnutrition et la famine ont longtemps été expliquées par une cause majeure unique, les problèmes de la production. L'accès aux biens alimentaires (Eischer, 1987) est progressivement devenu prépondérant dans la réflexion. « La vraie question n'est pas la disponibilité totale de nourriture mais son accès par les individus et les familles. Si une personne manque des moyens pour acquérir la nourriture, la présence de nourriture sur les marchés n'est pas d'une grande consolation » (Sen, Dreze 1990). Le concept de sécurité alimentaire s'analyse à différents niveaux ; mondial, régional, national, ménages, individu (Azoulay, Dillon, 1993). L'objectif final de la sécurité alimentaire est « d'assurer en tout temps et à tous les hommes l'accès matériel et économique aux aliments de base dont ils ont besoin ». Cette dimension « accès » du concept renvoie à la pauvreté. Les questions de répartition des ressources et d'emploi sont centrales tant au niveau national que mondial.

L'aggravation des déséquilibres dans la répartition des ressources à l'échelle de la planète est tel, qu'en 1994, 20 % de la population concentrait 85 % de la richesse mondiale. Les 20 % les plus pauvres ne disposaient que de 1,4 % de cette richesse (PNUD, 1995). Entre 1950 et 1992, le revenu moyen par habitant a triplé mais les 20 % les plus pauvres n'ont guère bénéficié de la mondialisation de l'économie. Leur part représente seulement 1 % des échanges mondiaux et à peine 0,2 % des crédits internationaux. Sur le plan nutritionnel, ces déséquilibres se traduisent par des écarts considérables des disponibilités énergétiques alimentaires (traduction en termes caloriques des disponibilités quantitatives par habitant) dans les différentes parties du monde (3600 calories aux USA contre 2200 en Inde).

DU CONSTAT AUX MODÈLES PROSPECTIFS GLOBAUX

Les analyses prospectives sur la sécurité alimentaire mondiale à l'horizon 2010-2020 font apparaître une double perspective :

- L'économie mondiale sera certainement en mesure de satisfaire la demande de la planète.
- Une large partie de la population mondiale ne parviendra pas à satisfaire ses besoins nutritionnels à des niveaux adéquats. L'Asie du sud et l'Afrique subsaharienne affronteront des déficits alimentaires résultant d'un développement sensible de la pauvreté.

Une vision prospective de la sécurité alimentaire mondiale repose, entre autres éléments, sur des anticipations sur la croissance de la population, des disponibilités énergétiques et des rendements.

La croissance démographique compromet-elle la sécurité alimentaire mondiale ?

La population mondiale a évolué de 2,7 milliards d'habitants en 1950 à 5,4 en 1990, soit un doublement en 40 ans. Le taux de croissance démographique global est passé d'un maximum de 2,1 % en 1965-1970 à 1,6 % en 1995 et devrait continuer de décroître à 1,3 % en 2005-2010 et 1 % en 2025. Avec une hypothèse moyenne de croissance, l'ONU estime qu'un nouveau doublement sera constaté en 2050 avec 10,8 milliards (7 milliards en 2010). Plus de la moitié de cette progression est inéluctable et résulte du rajeunissement passé de la structure par âge (Collomb, 1994).

D'ici l'an 2010, 94 % de la croissance de la population se produira dans les pays en développement. Ces projections dépendent de l'hypothèse de généralisation à l'ensemble du monde du type de fécondité rencontré dans les pays industrialisés. Elles dépendent du comportement des populations les plus fécondes, en particulier des populations africaines. L'Afrique comptera environ 900 millions d'habitants en l'an 2010. Le taux de croissance a été ramené de 3,2 à 2,9 % par les dernières études (ONU, 1994). Une baisse de la fécondité est actuellement constatée. Cette baisse ralentirait la croissance démographique qui, aujourd'hui, conduit à un doublement de la population en 24 ans. Le taux de fécondité est de 6,4 enfants par femme contre 3,8 pour l'ensemble des PVD. Certains pays (Ghana, Guinée, Sénégal, Cameroun, Côte d'Ivoire, République Centrafricaine, Kenya, Botswana) connaissent une baisse de la fécondité d'un enfant par femme en dix ans, au moins dans les villes. Dans les villes, un effet retard apparaît avec l'allongement de la scolarisation des filles, au moment du mariage et au moment du premier enfant.

Faiblesse et vulnérabilité de la croissance des disponibilités énergétiques dans les pays à faible revenu et à déficit vivrier

Le seuil exprimé en nombre de calories/jour nécessaire à une alimentation satisfaisante doit être de 1,55 fois le métabolisme de base. En deçà, les individus sont considérés comme souffrant de sous-alimentation chronique[1]. En 1960, les disponibilités alimentaires par habitant (DAH) étaient très inégalement réparties (3030 calories pour les pays développés et 1960 pour les PVD, soit 2300 en moyenne). La moitié de la population mondiale et trois quarts de la population des PVD disposaient de 1835

[1] La sous-alimentation chronique est définie comme un apport énergétique alimentaire insuffisant, en moyenne annuelle, pour maintenir le poids corporel et permettre une activité légère.

calories en moyenne, niveau à peine supérieur à la sous-alimentation chronique. L'écart entre PD et PVD s'est maintenu à 1000 calories-jour en 1970. L'incidence de la malnutrition était alors estimée à 900 millions de personnes, soit 35 % de la population des PVD. La décennie 1970 a vu des progrès rapides pour les PVD dans leur ensemble (2135 calories-jour). L'incidence de la malnutrition chronique, exprimée en pourcentage, a reculé dans les années 1980 (20 % contre 35 %), mais le recul est faible compte tenu de la croissance démographique (800 millions de personnes contre 900). Ainsi deux éléments importants caractérisent cette évolution :

- L'existence de disparités importantes dans les évolutions des DAH depuis 1970 (les résultats obtenus par l'Asie et l'importance de sa population entraînait l'indicateur d'ensemble, tandis que l'Afrique et l'Amérique latine ne progressaient pas ou très faiblement).
- La stabilité des progrès accomplis n'a pas été assurée dans beaucoup de PVD. Ces pays connaissent une grande vulnérabilité des résultats obtenus, contrairement aux pays industrialisés qui maintiennent ou accentuent de façon régulière les progrès obtenus.

La croissance des gains de productivité atteint-elle certaines limites ?

Le taux de croissance de la production agricole mondiale subit une tendance de long terme au ralentissement ; 3 % dans la décennie 1960, 2,3 % dans les années 1970 et 2 % entre 1980-1992.

Le ralentissement de la croissance peut être analysé de différentes façons ; il peut être perçu comme le signe inquiétant de l'existence de barrières dans la croissance des gains de productivité (baisse des innovations, érosion des sols, pollution atmosphérique, épuisement des nappes, salinité des terres irriguées, etc.). Il peut être aussi perçu comme le signe d'une évolution positive de la démographie mondiale, le niveau de consommation alimentaire par habitant atteignant pour une part de plus en plus grande de la population un seuil à partir duquel les augmentations de revenu ne se traduisent pas par une croissance de la demande.

Les terres potentiellement aptes à la culture représentent environ 70 % du total des terres. Mais des contraintes, variables selon les régions, limitent la capacité potentielle d'extension des superficies. L'Afrique subsaharienne représente à elle seule 44 % des réserves de terre aptes à une production pluviale et non encore exploitées. Mais, 71 % de ces réserves de terre subissent des contraintes pédologiques ou topographiques (FAO, 1995). Les potentialités d'extension des surfaces existent mais sont donc relativement limitées. Elles sont estimées par la FAO à environ 5 % des réserves, soit 90 millions d'hectares pour l'ensemble des PVD (Chine non comprise).

Au-delà de l'extension des surfaces cultivées, de l'irrigation et des intensités de culture, la croissance des rendements des principales cultures des pays industrialisés ne semble pas devoir être de même ampleur que celle constatée dans le passé. L'ampleur des efforts de recherche et la façon dont ces efforts se répartiront entre cultures et entre zones de la planète détermineront le niveau et la répartition des gains de productivité futurs.

Les modèles prospectifs ne convergent pas

Les modèles du Worldwatch Institute (L. Brown, 1995), du Groupe Consultatif pour la Recherche Agricole Internationale (G. Conway, 1994), de l'Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation (FAO, 1995), de l'International Food Policy Research Institute (IFPRI, 1995) et de la Banque Mondiale (Mitchell, Ingco, 1993) ne convergent pas.

Les hypothèses en matière de production et de rendement sont différentes. Le GCRAI fait l'hypothèse de la constance de la tendance au doublement des rendements en 30 ans. Sur les terres déjà cultivées, l'augmentation de la production alimentaire serait suffisante pour satisfaire les besoins globaux, à cause de l'apparition de variétés améliorées par génie génétique capables de rendements accrus et par la croissance de l'utilisation des engrais (30 kg d'azote à l'hectare en Asie, 15 en Amérique du sud, et 4 en Afrique contre 120 à 500 en Europe de l'Ouest et au Japon). L'irrigation a permis en 30 ans le passage de 100 à 170 millions d'hectares cultivés dans les PVD. La croissance des superficies irriguées serait de 60 % essentiellement en Asie (Inde et Chine). La dégradation des terres (2 milliards d'hectares depuis 50 ans, soit 17 % des terres cultivées) est cependant reconnue. L'érosion de l'eau, du vent, la perte des éléments nutritifs, la salinisation, l'acidification, le tassement, la pollution résultant de pratiques agricoles inadaptées comme la disparition des forêts (16 millions d'hectares par an) constituent une limite à la croissance de la productivité.

La FAO fait l'hypothèse d'un taux de croissance de la production agricole mondiale de 1,8 % entre 1995 et 2010. Cela est conforme à la tendance à la décroissance constatée sur le long terme. Cette réduction des rythmes de croissance n'est pas en soi négative, si pour une part de plus en plus grande de la population mondiale les augmentations de revenu ne se traduisent pas par une croissance de la demande. Elle ne l'est que parce que continuent d'exister des zones de niveaux de consommation insuffisants.

Les conclusions du modèle néo malthusien de L. Brown s'écartent des autres modèles. La production mondiale n'est plus capable de croître suffisamment pour satisfaire la demande solvable de biens alimentaires d'une population en expansion. La capacité de charge maximale de la planète est susceptible d'être atteinte par la pression démographique. Le recours au planning familial et au contrôle des naissances plus qu'aux politiques agricoles est alors indispensable. La sécurité alimentaire remplacerait pour la première fois la sécurité militaire dans les priorités des gouvernements.

Les modèles estiment le déficit global de l'offre de céréales entre 160 millions de tonnes (FAO), 200 millions (IFPRI), 210 millions (Banque Mondiale) et 700 millions (CGRAI), ce dernier chiffre incluant 400 millions de tonnes destinés à combler le besoin caché des pauvres. On assisterait, entre 1990 et 2010, à un déplacement de l'incidence majeure de la sous alimentation de l'Asie du sud vers l'Afrique subsaharienne et une faible réduction du nombre de personnes concernées serait constatée (730 millions contre 809).

Dans un tel cadre prospectif, deux scénarios globaux alternatifs sont envisageables :

1. Le maintien et le renforcement durable d'une division internationale du travail agricole issue des structures actuelles de l'économie alimentaire mondiale.
2. Le renforcement significatif de la base de production et la mise en œuvre de véritables stratégies globales de sécurité alimentaire dans les zones ou cette sécurité apparaît la plus menacée.

LE RENFORCEMENT DE LA DIVISION INTERNATIONALE ACTUELLE DU TRAVAIL AGRICOLE

Seul importe, dans ce modèle, le niveau des disponibilités mondiales. Une forme permanente et structurée de division internationale du travail agricole se maintient dans laquelle un petit nombre de pays grands producteurs satisfont les besoins alimentaires d'un nombre élevé de pays déficitaires. Ces pays déficitaires

s'approvisionnent sur le marché mondial et l'aide alimentaire vient combler l'impossibilité de certains d'entre eux de financer leurs importations commerciales.

Les pays industrialisés ont développé leurs productions grâce à des politiques publiques de soutien et ont capté plus des deux tiers du commerce international. La libéralisation des échanges, credo du GATT depuis 1948, n'a pas permis, dans le domaine agricole, l'application du principe des coûts comparatifs. Le libre échange intégral n'aurait pas eu d'autre effet que de faire disparaître, par exemple, l'agriculture de la CEE. La question alimentaire pose à tous les pays le problème politique, social et économique, de la sécurité de leurs approvisionnements, du maintien d'un mode de vie, d'une structure sociale, d'une culture.

La tendance pour les PVD de devenir de grands importateurs s'est constituée en même temps que les grands producteurs accroissaient leurs excédents. Les USA ont accru leur production de 41 % entre 1970 et 1980 et ont exporté 95 des 105 millions de tonnes supplémentaires produites. La CEE développait ses productions de plus de 55 millions de tonnes entre 1970 et 1990 et en exportait 87 %. Les politiques de soutien au secteur agricole ont permis cette croissance. Entre 1980 et 1990, les « équivalents subvention à la production » sont passés de 99 à 176 milliards de dollars pour les pays de l'OCDE, soit une croissance de 7,5 % en moyenne annuelle (OCDE, 1991). Cela correspond à une aide par exploitant de 15 000 dollars et une aide à l'hectare cultivé de 171 dollars.

À l'inverse, la taxation de l'agriculture était la règle en particulier en Afrique. Les besoins liés aux politiques d'industrialisation et au renforcement de l'État ont pénalisé l'agriculture, par la politique des prix ou par la surévaluation des taux de change ou des droits de douane.

Quelques conditions de viabilité de ce scénario

L'intégration de l'agriculture au GATT n'autorise la sécurité alimentaire mondiale que par la croissance de la productivité et la baisse de la natalité. La hausse des revenus et du pouvoir d'achat des pauvres est une condition de viabilité du modèle. Il est nécessaire que la division internationale du travail confère aux pays à déficit la capacité de dégager des revenus susceptibles de permettre l'importation de biens alimentaires (et d'autres biens). Les pays déficitaires doivent alors poursuivre leur spécialisation dans des cultures de rente dont les cours soient stables et/ou dans des productions industrielles dont la composante en travail est élevée. Ces dernières activités se situent souvent au-delà des spécialisations traditionnelles. La sécurité alimentaire au niveau national n'est pas menacée pour les PVD en forte croissance et ayant réussi leur diversification. Mais les spécialisations économiques supposent une réelle stabilité de l'ensemble des courants d'échanges. La stabilité des revenus des matières premières exportées est loin d'être assurée par le jeu du marché, même élargi. Les pays qui ne réussissent pas à se dégager du schéma traditionnel de l'exportation quasi-exclusive de matières premières risquent d'être exclus du modèle.

Les pays exportateurs, quant à eux, sont en mesure de réagir à une croissance de la demande solvable en augmentant leurs productions grâce à des soutiens internes toujours mobilisables et à la réversibilité des mesures de gel des terres. Cette capacité de répondre à la demande est assurée à l'horizon 2010.

En tout état de cause, on se situe dans le cadre d'une conception de la sécurité alimentaire fondée sur l'existence d'un marché mondial unique et homogène. L'accroissement de la demande mondiale serait satisfait par le commerce international. Ce modèle peut difficilement s'appliquer aux plus pauvres des pays ; 75 pays ont vu décroître leur production alimentaire par habitant dans la décennie 1980. Bon nombre,

malgré l'ajustement structurel, ne connaissent pas un processus de diversification et de croissance de leurs revenus à l'exportation.

Les effets de la libéralisation des échanges agricoles sur les Pays les Moins Avancés

L'impact de l'Uruguay Round sur la sécurité alimentaire des pays à déficit peut être fortement déstabilisateur à moyen terme. Les pays importateurs peuvent subir le contrecoup du processus de libéralisation. La réduction des soutiens a provoqué une baisse des excédents, des stocks publics et une hausse des cours mondiaux. L'impact sur la situation des pays déficitaires est négatif par la réduction des disponibilités, le renchérissement des coûts en devises des importations et la réduction de l'aide alimentaire.

Les pays à faible revenu et à déficit vivrier peuvent difficilement dans ce contexte, être incités dans le même temps, par les programmes d'ajustement structurel, à recourir aux importations pour assurer leur sécurité alimentaire, à limiter leurs stocks, à réduire les soutiens internes aux productions vivrières domestiques ou à la fourniture d'intrants. La conséquence de ces incertitudes pour les pays africains déficitaires est un déséquilibre commercial accru. Le risque d'une situation globale temporaire de déficit alimentaire et de hausse significative des prix constitue une hypothèse qui ne peut être exclue, alors que les mesures compensatoires envisagées restent aléatoires.

La marginalisation des pays les plus pauvres dans l'économie mondiale s'accroît. Leur participation au commerce se réduit de moitié dans la valeur des exportations mondiales passant à 0,6 % dans la décennie 1980 et se réduit d'un tiers dans les importations mondiales à moins de 1 %. En même temps, le taux d'ouverture de ces économies décroît de 17 à 14 %. Ces pays conjuguent donc un processus de marginalisation et une dégradation de leur développement humain.

L'instabilité des marchés mondiaux agricoles

Le contexte de globalisation conduit à une instabilité des marchés agricoles. La libéralisation des politiques et des marchés est censée provoquer une réduction des effets déstabilisants par une plus grande égalité dans l'accès aux marchés et l'élargissement de la production qui devrait accroître le nombre d'intervenants (les échanges s'accroissant, les fluctuations des prix doivent diminuer). La réduction de la spéculation et la baisse des coûts de transaction sont attendues de la croissance escomptée de la production. Ces arguments ne sont pas nécessairement vérifiés. Les distorsions sur le commerce international agricole ont été attribuées très largement aux politiques domestiques de soutien à l'agriculture. Mais les interventions des acteurs, grands négociants et spéculateurs, les variations climatiques jouent un rôle considérable.

Ainsi de fortes fluctuations des marchés agricoles s'instaureront probablement autour d'une tendance de baisse des prix à long terme. Les pays gros producteurs fondent alors leurs politiques d'exportation vers les marchés porteurs en gérant l'instabilité constante. La demande non solvable relève de l'aide alimentaire dont les pays producteurs assurent la livraison en tentant de se constituer des zones d'influence.

L'aide alimentaire

L'aide alimentaire joue un rôle déterminant dans ce scénario. Ce rôle est d'abord fonction du maintien des excédents. En 1995, la baisse de la production mondiale consécutive aux décisions du cycle d'Uruguay s'est traduite par une hausse sensible du prix des céréales et une diminution des stocks.

En 1994-1995 les stocks mondiaux de céréales ont atteint leur niveau le plus bas depuis 1981. La hausse des prix liée à cette baisse de la production réduit de 20 % le montant des quantités de céréales disponibles pour l'aide alimentaire cette année. Selon L'USDA, les stocks mondiaux de report ont été à la fin de la campagne 1995-1996 de 232 millions de tonnes contre 295 millions l'année précédente. Cela équivaut à la couverture de 49 jours de consommation, niveau le plus bas jamais enregistré. En 1973, les prix avaient doublé et les stocks mondiaux couvraient alors 55 jours de consommation.

En Afrique subsaharienne, l'impact de telles évolutions si elles devaient perdurer, serait considérable. Entre 1974 et 1994, le volume des importations céréalières a progressé à un taux annuel moyen supérieur à 5 %, passant de 4 à 11 millions de tonnes (18 % de la production domestique en fin de période). L'aide alimentaire a représenté, en moyenne sur la période 1984-1994, environ 40 % du total des importations céréalières. Cette aide a augmenté deux fois plus vite que ces importations.

Avec l'hypothèse d'une constance du revenu mondial, l'objectif de faire passer la ration calorique de 700 millions de pauvres de 1500 à 3000 calories/jour, impliquerait des besoins en aide alimentaire de 400 millions de tonnes. Cela équivaut à 40 milliards de dollars soit 20 fois la valeur de l'aide alimentaire en 1990. Enfin, le débat ancien sur l'efficacité de l'aide alimentaire sur le développement continue de se poser de manière décisive.

En tout état de cause, il ne peut être acquis, à moyen terme, que le recours à l'aide alimentaire et au marché mondial résorbe de manière permanente les manifestations de la faim. La satisfaction des besoins nutritionnels des populations des pays pauvres à déficit impose une toute autre approche en termes de stratégies nationales ou régionales de sécurité alimentaire.

LE RENFORCEMENT DES CAPACITÉS DE PRODUCTION ET D'ACCÈS DANS LES PAYS PAUVRES À DÉFICIT VIVRIER

La globalisation de l'économie peut entraîner des conséquences tout à fait préjudiciables sur l'accès des populations aux denrées alimentaires dans les pays qui ne participent pas à la course à la compétitivité. La sécurité alimentaire mondiale ne peut être seulement considérée du point de vue de la situation de l'offre et de la demande globale. Cette approche découle, on l'a vu, du postulat de l'existence d'un marché mondial unique et homogène. Il convient d'adopter un point de vue plus large, incluant la spécificité de la situation de l'offre et de la demande dans les pays à faible revenu. Dans ces pays, la demande et l'offre de produits alimentaires ne sont pas totalement séparées comme elles le sont dans les sociétés industrialisées. Une large partie de la population vit de l'agriculture et l'offre et la demande ne se distinguent pas clairement pour les petits producteurs. Le niveau de la demande dépend du niveau de revenus essentiellement agricoles. La croissance de l'offre nationale ne constitue cependant pas la condition suffisante pour permettre à tous les ménages d'atteindre la sécurité alimentaire. La question de la répartition des ressources devient alors partie intégrante de l'analyse.

Ce second scénario repose alors sur quelques postulats essentiels. La sécurité alimentaire mondiale résulte de la sécurité alimentaire des pays et des grandes régions du monde. Elle n'en est que la résultante. Le monde ne peut être considéré comme une zone unique, un marché homogène. L'action centrale en faveur de la sécurité alimentaire mondiale porte, dans cette perspective, sur les zones déficitaires et non sur

la capacité des grands exportateurs à couvrir les besoins estimés à l'échelle mondiale. La sécurité alimentaire des pays les plus pauvres ne devrait reposer que marginalement sur le marché mondial (importations commerciales et aide alimentaire) du fait notamment de sa forte instabilité. Les pays pauvres doivent pourvoir à leurs propres besoins alimentaires et la plupart d'entre eux en ont la capacité. L'investissement agricole devrait privilégier, dans les pays déficitaires, les zones elles-mêmes les plus déficitaires et pas seulement les zones les plus productives et les plus prospères. Ainsi, peut se mettre en place un processus de répartition plus équitable des ressources produites, même si le taux de croissance global obtenu n'est pas le plus élevé. Les solutions à moyen et long terme ne peuvent provenir que d'un développement agricole orienté vers les plus pauvres.

Dans une telle perspective, l'enjeu essentiel de la réflexion s'organise autour de quatre axes essentiels :

- La croissance de la production et de la productivité dans le respect des contraintes écologiques (par une « révolution doublement verte »?).
- Le renforcement significatif des stratégies et politiques de sécurité alimentaire.
- Le renforcement de la spécialisation internationale sur la base d'ensembles régionaux.
- La réduction des inégalités sociales internes.

Une « révolution doublement verte » est-elle envisageable ?

La révolution verte est-elle à bout de souffle ? De nombreux éléments ont été avancés dans ce sens, notamment par Lester Brown. Les problèmes qui en ont résulté sont connus : la pollution des eaux par les engrais, le plafonnement des rendements, le déboisement, les effets négatifs des pesticides, un changement de régime hydrique, des modes de production et de consommation exclusivement guidés par des stratégies de marché et non des besoins collectifs et l'accroissement des inégalités. Ce modèle présente des difficultés sérieuses de transposition vers l'Afrique subsaharienne, car ces conditions de réussite n'y sont pas réunies.

Une nouvelle révolution verte incluant les préoccupations d'équité et d'environnement peut-elle être envisagée ? Ce processus est présenté (GCRAI, 1994) comme une révolution plus productive et plus verte dans la mesure ou elle se préoccupe de la conservation des ressources naturelles et de la protection de l'environnement, une transformation de l'agriculture plus équitable et plus durable qui serait orientée vers l'objectif de sécurité alimentaire. La logique de la révolution verte initiale serait renversée car le point de départ serait la demande socio-économique des ménages pauvres. À cette fin, la recherche aurait pour objet de développer la production dans les zones à faible potentiel où se concentre la pauvreté rurale et de favoriser l'intensification dans les zones à haut potentiel tout en conservant les ressources naturelles et en respectant l'environnement.

L'accès aux technologies agricoles par les pays pauvres n'est pas assuré. Le changement technique est aujourd'hui intégré dans un système économique libéralisé et globalisé au niveau mondial. La compétitivité et le marché étant devenus la règle des comportements des acteurs étatiques et privés, certains États (dont les États-Unis) ont insisté pour que la question de la propriété intellectuelle soit traitée dans la négociation d'Uruguay. Les décisions prises renforcent la protection des droits de propriété. La protection par brevet devient donc de plus en plus le moyen de contrôle de l'information et de la compétition industrielle. Dans le domaine des biotechnologies, des réseaux se créent, structurant des pôles de recherche et des entreprises dans un processus de concentration du capital. Les interventions des États

industrialisés consistent alors à soutenir leurs systèmes nationaux d'innovation et à développer la protection de ces systèmes. Les autres États, alors que les systèmes publics de recherche traversent une crise, disposent de moins en moins de moyens d'intervention sur leur propre devenir économique et social. La question de l'accès des pays pauvres aux techniques agricoles retrouve donc une importance décisive. Le démantèlement des systèmes publics d'encadrement, de formation, de vulgarisation intervenu dans le cadre de la privatisation des entreprises publiques aggrave la situation.

Le renforcement significatif des stratégies et politiques de sécurité alimentaire

Atteindre la sécurité alimentaire au niveau national ou régional, c'est atteindre trois objectifs :

- Assurer des disponibilités adéquates de denrées alimentaires par une croissance de la production domestique et le recours au commerce international quand cela est nécessaire et possible. L'aide peut compléter les disponibilités seulement en cas d'urgence.
- Maintenir la stabilité de ces approvisionnements par la réduction des fluctuations de l'offre et des rendements, par une gestion adéquate des stocks nationaux, par le développement d'infrastructures de transport et de systèmes de commercialisation.
- Permettre l'accès par tous les individus aux denrées disponibles. Les politiques de redistribution des revenus, d'emploi et de consommation contribuent à cet objectif.

Aujourd'hui, les politiques de sécurité alimentaire, en particulier en Afrique, s'inscrivent dans la logique macro-économique de l'ajustement structurel. Ces approches de la sécurité alimentaire ont constitué la «dimension sociale» essentielle des politiques d'ajustement et le champ d'intervention prioritaire des mesures d'atténuation pour les groupes vulnérables des effets négatifs des politiques macro-économiques.

Le scénario alternatif remet au cœur du problème de la sécurité alimentaire mondiale les questions de croissance de la production, de productivité, d'emploi, de répartition du revenu. Autrement dit, le concept est reconsidéré dans toutes ses dimensions. À une approche qui privilégie le rôle des importations et de l'aide, on oppose une approche globale en terme de stratégie, condition d'une transformation agricole qui est un préalable à tout développement quel qu'en soit la forme.

Une spécialisation internationale sur la base d'ensembles régionaux

L'intégration régionale et la division régionale du travail en matière agricole et alimentaire constituent des procédures nécessaires en Afrique. Malgré le plan de Lagos de 1980, les résultats des tentatives d'intégration sont limités alors qu'existent plus de 150 organisations intergouvernementales.

Dans une procédure d'intégration régionale, la protection doit être assurée par un tarif extérieur commun établi à un niveau tel qu'il assure la compétitivité des céréales locales en limitant la concurrence des importations et stimule la production régionale de produits de base en permettant la croissance de la productivité. À l'intérieur de la zone, des mesures de libéralisation et la dynamisation du secteur privé assurent la stabilisation des marchés intérieurs.

Dans ce cadre de coopération régionale en matière de développement agricole, la spécialisation des agricultures sur la base des capacités maximales de charge et des coûts les plus bas par unité produite conduit à une répartition nouvelle efficace des cultures à l'échelle de la zone d'intégration.

Un mode nouveau de régulation et de partage du revenu national

Une des conditions de viabilité de ce modèle alternatif est la nécessité pour l'État de retrouver dans les pays à faible revenu et à déficit alimentaire, en particulier en Afrique, ses grandes fonctions de régulation de l'activité économique. Le marché à lui seul ne peut permettre d'atteindre la sécurité alimentaire dans ces pays. Les stratégies de sécurité alimentaire peuvent alors constituer un principe directeur de l'action publique et participer en cela à la réhabilitation du rôle de l'État. Faut-il rappeler que la satisfaction des besoins alimentaires et nutritionnels est, à la fois, l'objectif premier et la condition du développement, quelles qu'en soient ses formes ?

Les griefs faits à l'État en Afrique subsaharienne sont connus. De l'ambition d'être l'acteur essentiel d'une croissance accélérée, l'État se serait progressivement transformé en « État baudruche » à l'origine d'inefficacité et de gaspillage des ressources. Le monétarisme avait mis l'accent sur les échecs de l'intervention de l'État dans la régulation de l'économie. L'État ne trouve plus de place dans l'espace de l'analyse économique et devient étranger à un monde entièrement conçu autour de l'idée d'échanges privés. De là découle le principe du moins d'État, composante essentielle des programmes d'ajustement structurel, l'État étant créateur de distorsions (Friedman, 1962, 1979), de conflits artificiels (Hayek, 1943) dans la sphère des relations marchandes privées généralisées.

Mais les analyses socio-économiques et anthropologiques fondent l'étude de l'État post-colonial africain sur les pratiques traditionnelles du pouvoir. Ces pratiques du pouvoir (à structure patrimoniale) ont été progressivement institutionnalisées après les indépendances et ont abouti à des formes combinées de gestion moderne et traditionnelles. Ces formes incluent des structures juridiques et institutionnelles formelles et le maintien de systèmes d'obligations, de prébendes, de clientélisme qui supposent la captation par des «entrepreneurs politiques» des ressources publiques et leur redistribution selon des réseaux complexes de relations (Bayart, 1989).

L'hypothèse de l'existence d'un marché régulé par l'État n'est plus à démontrer en Asie (Wade, 1990). La gestion par l'État du processus de passage d'une stratégie à une autre et le maintien d'un haut niveau de cohésion sociale interne sont aussi des facteurs importants. Beaucoup de ces conditions n'ont pas été réunies en Afrique.

Pour l'État Africain, la régulation du partage du revenu national et la lutte contre les inégalités sociales découlent d'un renouvellement profond de son rôle. Certains éléments imposés par l'ajustement structurel doivent être remis en cause. Un problème majeur est le choix par l'État d'une stratégie globale, sa poursuite de manière constante et cohérente et sa capacité à la modifier quand l'environnement l'exige. Dans beaucoup de pays, des États autoritaires mais « mous » (au sens de Myrdall, 1969) n'ont pas isolé la gestion de l'économie publique de la recherche de rentes. Peu dÉtats disposent de la cohésion politique et sociale pour s'engager dans un processus de mise en œuvre de politiques de développement autonomes et « fortes » qui tirent avantage des opportunités du marché mondial grâce à une intervention publique aussi importante que nécessaire. Les pays ne disposent pas, en général, des institutions et des procédures qui assurent de manière permanente et fiable l'orientation du système économique et social dans son ensemble, c'est-à-dire la coordination des instruments de gestion de court terme (budget, crédit, prix) avec les activités d'investissement

matériel et humain à moyen et long terme. L'optimisation et la cohérence ne sont pas assurées et un catalogue de projets (quand il existe) relevant de logiques de marché n'assure pas automatiquement une cohérence macro-économique.

Par ailleurs, les processus d'élaboration des stratégies sectorielles ou globales ne prennent pas en compte les préférences individuelles ou collectives des populations. L'État ne peut donc ensuite mobiliser les citoyens dans la mise en œuvre des moyens nécessaires à la recherche d'objectifs qui ne sont ni inspirés, ni même souvent partagés par les citoyens. Les comportements des différents groupes sociaux, leur adhésion à un projet commun, (que ce projet soit national ou plus simplement sectoriel et local) constituent un facteur décisif de la réussite ou de l'échec d'une stratégie de sécurité alimentaire.

CONCLUSION

L'impératif de sécurité alimentaire au niveau mondial comme au niveau national s'impose, mais les moyens de l'atteindre diffèrent.

Le renforcement des capacités de production de biens alimentaires et des capacités d'accès des individus aux biens dans les zones les plus défavorisées constitue un modèle souhaitable. La mise en œuvre de véritables stratégies, stratégies cohérentes et constantes, mobilisant les différents acteurs est une pierre angulaire de ce scénario alternatif. Dans les pays pauvres à déficit alimentaire, en particulier africains, le renforcement de la *recherche* publique, une redéfinition de la nature et du rôle des États, l'intégration régionale constituent des conditions du succès de cette approche. Les capacités de résistance des États, les effets sociaux négatifs de l'ajustement, la paupérisation croissante et le développement de l'informel rendent ce processus à la fois plus difficile et plus nécessaire.

Bibliographie

1. AMIN S. (1988), L'État et la question du développement, Publisud
2. AZOULAY G., DILLON J.-C. (1993), La sécurité alimentaire en Afrique : Manuel d'analyse et d'élaboration des stratégies, Karthala - Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris.
3. Banque Mondiale (1986), Rapport sur le développement dans le Monde
4. BAYART J.-F. (1989), L'État en Afrique, Fayard.
5. CNUCED (1995), Les Pays les Moins Avancés, Rapport 1995, Genève.
6. COLLOMB P. (1994), Démographie et épuisement des ressources naturelles, INED
7. EISCHER C. (1987), Food security for Southern Africa, University of Zimbabwe.
8. FAO (1995), La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 1994, Rome.
9. FAO (1993, 1995), L'agriculture mondiale à l'horizon 2010 : une étude de la FAO, édité par N. Alexandratos.
10. FAO (1995), Dimension planétaire de l'alimentation, l'agriculture et la sécurité alimentaire ; Texte préparatoire au Sommet Mondial de l'Alimentation
11. FRIEDMAN M. (1962), Capitalisme et liberté, Laffont, 1971.
12. FRIEDMAN M. et R. (1979), La liberté du choix, Belfond, 1980.
13. Groupe Consultatif de la Recherche Agronomique Internationale (1994), Sustainable Agriculture for a Food Secure World, sous la direction de Gordon Conway ; Oversight Committee du GCRAI.
14. HAYEK F. (1943), La route de la servitude, Librairie de Médicis, 1946.

15. International Food Policy Research Institute (1995), A 2020 vision for food, agriculture and the environnement, IFPRI.
16. LESTHAEGHE R. (1989), Social organisation, economic crisis and the future of fertility control in Africa ; Study in Démography, Univ. of California Press ; cité par T. Locoh, Pauvreté et croissance démographique en Afrique ; Vivre autrement ; Mars 1995.
17. LIPTON M. (1977), Why poor people stay poor : a study of the urban bias in world development, London, Temple Smith.
18. MALTHUS T. (1798), Essai sur le principe de population.
19. MITCHELL D.O., INGCO M.D. (1993), The world food outlook, Banque Mondiale.
20. MYRDALL G. (1969), L'État mou dans les pays sous-developpés, Tiers Monde, N°37
21. Nations-Unies (1994), Projections démographiques.
22. OCDE (1991), Tables of Producer Subsidy Equivalents and Consumer Subsidy Equivalents.
23. Programme Alimentaire Mondial (Avril 1995), Flux d'aide alimentaire, Interfais, Rome.
24. Programme des Nations-Unies pour le Développement (1995), Rapport sur le Développement Humain.
25. SEN A., DREZE J. (1990), Hunger and public action, Clarendon Press, Oxford
26. UNICEF (1994), La situation des enfants dans le monde.
27. WADE R. (1990), Governing the market : Economic theory and the role of government in East Asian industrialization, Princeton University Press.
28. Worldwatch Institute (1995), L'état de la planète.

A2 : Biotechnologies et plantes à multiplication végétative : quelles stratégies ?

DUCREUX G.
Laboratoire Morphogenèse Végétale Expérimentale
Université de Paris Sud XI Bât 360 F-91405 - ORSAY Cedex

Si la base de l'alimentation humaine repose sur les céréales, les plantes à multiplication végétative, et plus particulièrement les plantes à tubercules, jouent un rôle clé dans l'alimentation vivrière. Leur mode de propagation a conduit précocement à l'application des techniques de culture *in vitro* dans deux domaines étroitement liés : la multiplication conforme accélérée et l'éradication des agents viraux par culture de méristème. De plus, pour ces plantes dont l'histoire, la structure génétique et/ou la difficulté de maîtriser la reproduction sexuée limitent souvent l'emploi des méthodes de sélection conventionnelles, l'intégration des diverses solutions biotechnologiques dans les programmes d'amélioration n'est plus à justifier.

Si on reprend la comparaison avec les céréales, les particularités des plantes à multiplication végétative sont évidentes. Dans le premier cas, le produit consommé est directement issu de la reproduction sexuée, il est donc clair que la sélection génétique sera privilégiée. Dans le deuxième cas, il s'agit de gérer au mieux des méristèmes préexistants ou disponibles pour une multiplication clonale conduisant à une homogénéité génétique et à une plus grande fragilité vis-à-vis des agents pathogènes.

Il s'y ajoute un contexte agro-économique particulier. Les plantes à multiplication végétative tubérifères sont généralement des plantes vivrières. Leur exploitation est donc soumise à de fortes contraintes locales : utilisation de cultivars traditionnels, petites surfaces, techniques agricoles peu performantes ; autant de particularités qui limitent la commercialisation à grande échelle. Il faut y ajouter la richesse en eau des produits récoltés qui complique la conservation et la régularité de l'approvisionnement.

Ces différents aspects seront illustrés à partir de deux exemples : la pomme de terre et la patate douce, choisis d'une part pour leur importance économique qui les place juste après les céréales (tableau 1) mais aussi pour leur statut respectif (tableau 2). La patate douce est une plante tropicale; la pomme de terre, après une histoire complexe, est produite essentiellement dans l'hémisphère nord et a été introduite récemment en zone tropicale.

L'EXEMPLE DE LA PATATE DOUCE

Il s'agit d'une culture vivrière typique dont les problèmes d'amélioration se posent essentiellement à trois niveaux :

- pratiques agricoles traditionnelles et association avec d'autres cultures vivrières : bananier, haricot, manioc... ne favorisant pas les hauts rendements ;
- choix des cultivars fortement marqué par les habitudes alimentaires locales et favorisant le maintien de variétés inadaptées ;
- très fortes pressions parasitaires, en particulier virales, comme conséquence du mode de multiplication.

Que peut-on proposer comme solutions raisonnables et quel peut être l'apport des biotechnologies?

Tableau 1 : Production mondiale de quelques plantes de grande culture (FAO - 1996).

Plantes	Production (MT)	Surface (Mha)
Céréales		
Blé	584,8	230,2
Maïs	576,8	140.0
Riz	562,3	150,7
Tubercules		
Pomme de terre	294,8	18,3
Manioc	162,9	16,3
Patate douce	134,2	9,2
Igname	33,1	3,2
Taro	5,7	1,0

Tableau 2 : Production par continent de la Patate douce et de la Pomme de terre (FAO – 1996).

Continents	Production (MT)		%	
	Pomme de terre	Patate douce	Pomme de terre	Patate douce
Afrique	7,8	7,4	3,5	5,5
Amérique du Sud	12,1	1,3	5,5	1,0
Océanie	1,4	0,6	0,6	0,4
Asie	85,3	123,7	38,9	92,2
Amérique du Nord	28,2	1,1	12,8	0.8
Europe	84,6	0,06	38,5	0,0
Total	219,4	134,2		

Maintien et évaluation de la diversité génétique

Compte tenu des habitudes alimentaires et de la multiplication clonale, la diversité génétique est certainement importante mais insuffisamment préservée. Il faut donc développer ou initier les collections nationales en s'appuyant sur les technologies disponibles et déjà appliquées à la patate douce : constitution de vitrothèques à partir de matériel sain (cultures de méristèmes), mise en œuvre de la cryoconservation récemment disponible (Blakesley et al., 1995).

Il convient, dans le même temps, d'évaluer comparativement ces génotypes avec pour principaux critères : la précocité, le rendement et les qualités organoleptiques ou favorables à la transformation industrielle. Les ressources génétiques sauvages sont partiellement identifiées et doivent être évaluées en terme de résistance aux pathogènes (Nishiyama et al., 1975 ; Jones et Dukes, 1980).

À plus long terme, l'identification moléculaire de ces matériels permettra une meilleure exploitation de ces collections (Hattori et al., 1985).

La production de matériel de plantation sain

C'est probablement la priorité majeure à l'heure actuelle, les pratiques culturales conduisant à accroître la charge virale, ce qui se traduit, en particulier, par d'importantes pertes de rendement.

À court terme, la culture de méristème, associée à la multiplication végétative *in vitro*, permettent un assainissement simple et rapide du matériel et une amélioration conséquente de la productivité. À titre d'exemple, on peut citer les résultats obtenus avec des variétés chinoises (tableau 3) (Lepoivre et Colinet, 1996).

Tableau 3 : Rendement en tubercules de la Patate douce (poids frais).

Variétés	Site de l'essai	Rendement		
		Kg/parcelle		Augmentation % par rapport au Témoin
		- Virus	+ Virus	
Yanzhishu	Guangshu	23,3	11,6	100.8
Shuzimia	Guangshu	37,8	20,2	87,1
Guangshu 70.9	Guangshu	29,5	25,5	15,6
Kanghanzhong	Guangshu	25,8	21,0	22,8
Zhounong	Guangshu	41,1	30,8	33,4
Guangshu 16	Guangshu	42,9	30,7	39,7

D'après Lepoivre et Colinet, Atelier Régional « Patate douce », Libreville, Janvier 1996

La disponibilité de cultivars assainis et performants exige le maintien et le contrôle de l'état sanitaire mais surtout la mise en place de filières de transfert procurant de façon régulière et répétitive du matériel de plantation sain aux cultivateurs. Il convient également que le coût de ces semences n'obère pas les gains en productivité. Les succès obtenus en ce domaine chez la pomme de terre autorisent à privilégier cette approche.

A plus long terme, la mise en œuvre pratique de l'embryogenèse somatique, disponible chez la patate douce (Cavalcante-Alves et al., 1994 ; Sihachakr et al., 1997) et des études épidémiologiques couplées à l'identification des virus (Colinet et Kummert, 1995 ; Colinet et al., 1994 ; Colinet et al., 1996) devraient encore améliorer la fourniture et une meilleure exploitation du matériel de plantation sain.

Quelles perspectives pour l'amélioration génétique ?

Elles ne sont pas vraiment définies et à envisager à plus long terme l'assainissement du matériel disponible étant prioritaire; de plus l'identification des ressources génétiques disponibles est encore trop partielle. Il faut y ajouter une physiologie de la floraison, encore mal comprise, limitant le succès des croisements. Les résultats prometteurs concernant la régénération des protoplastes, (Sihachakr et Ducreux, 1987 ; Sihachakr et Ducreux, 1993), la maîtrise des étapes de l'embryogenèse somatique (Sihachakr et al., 1997) et la faisabilité de la transformation (Prakash et Varadarajan, 1992 ; Otani et al., 1993) sont autant de contributions à des avancées dans ce domaine.

En conclusion, les possibilités d'amélioration de la patate douce restent directement corrélées à son statut de plante tropicale vivrière à multiplication végétative. Le point clé reste actuellement la fourniture fiable de matériel de plantation sain et la préservation de la variabilité génétique. Les perspectives d'amélioration et de sélection existent compte tenu des avancées récentes, en particulier dans le domaine des biotechnologies, et le gain génétique devrait être important puisque la patate douce a été relativement peu travaillée. Mais cet objectif ne semble pas prioritaire pour les pays concernés qui ont les clés en main.

L'EXEMPLE DE LA POMME DE TERRE

Bien qu'il s'agisse également d'une plante tubérifère à multiplication végétative, le statut de la pomme de terre est complètement différent. D'une part, si elle reste fréquemment une plante vivrière, elle est également exploitée comme plante de grande culture, d'autre part, bien qu'originaire d'Amérique du Sud, la pomme de terre a été adaptée puis améliorée pour les conditions environnementales de l'hémisphère nord. Dans les régions tropicales chaudes la pomme de terre a été importée, voire « imposée », même si la mondialisation des goûts alimentaires en fait un légume de plus en plus prisé, parfois à contresens des habitudes de consommation locales.

La conséquence logique de cette histoire est que la pomme de terre, contrairement à la patate douce précédemment envisagée, n'est pas adaptée aux conditions climatiques tropicales.

Problèmes posés par l'adaptation de la pomme de terre aux régions tropicales

Dans l'état actuel de la sélection, l'obtention de rendements satisfaisants n'est possible qu'en altitude ; les problèmes de la culture en zones tropicales basses sont à plusieurs niveaux :

Agronomiques : les conditions climatiques tropicales ont un effet dépressif sur l'activité photosynthétique et la tubérisation. Il s'y ajoute une faible tolérance à la sécheresse et à la salinité. Ce dernier problème peut être partiellement réglé par l'utilisation judicieuse de l'irrigation et des cultures associées, en particulier pour la production vivrière. Mais la correction des paramètres physiologiques de base ne peut être obtenue qu'à partir d'une amélioration génétique complexe et prenant appui sur les ressources génétiques d'Amérique du Sud plutôt que sur les cultivars actuels qui, dans la majorité des cas, ont été transférés directement de l'hémisphère nord (Spire et Rousselle, 1996 ; Ellisèche, 1996).

Pathologiques : ce sont probablement les problèmes les plus épineux compte tenu de la multitude des attaques parasitaires en condition tropicale et de la multiplication clonale. Ces maladies sont aussi bien d'origine virale, que bactérienne (*Pseudomonas*) que fongique (*Alternaria*) ou encore liées aux nématodes. La pression des insectes vecteurs ou prédateurs amplifie ces effets (Kerlan et al., 1996). Dans ce cas également, en dehors d'une lutte intégrée difficile à mettre en œuvre et peut-être illusoire, la solution passe par une amélioration génétique à long terme prenant effectivement en cause les paramètres spécifiques aux régions tropicales.

La fourniture et la disponibilité de semences saines

Traditionnellement les semences utilisées sont les tubercules de l'année précédente. Cette poursuite sur une longue durée de la multiplication de clones existants a favorisé l'extension des maladies virales; extension amplifiée par l'existence d'insectes vecteurs. Ces pratiques ont conduit à terme, malgré la mise en œuvre d'une sélection sanitaire sévère au champ, à l'élimination de certaines variétés (Ducreux et al., 1986). Il est maintenant bien connu que la solution est venue de la culture *in vitro*. D'abord avec l'« invention » de la culture de méristèmes et de ses conséquences positives sur l'assainissement de la majorité des maladies à virus (Kerlan et al., 1996), puis la mise en œuvre de la multiplication végétative accélérée (Nozeran et al., 1977) couplée ou non à la tubérisation *in vitro* (Charles et al., 1992 ; Charles et al., 1995 ; Désiré et al., 1995 a et b). Si on y ajoute les possibilités récentes de cryoconservation, il existe

désormais tout un ensemble de techniques permettant de gérer au mieux la fourniture renouvelée de semences de plantation saines et performantes.

Si cette approche a donné ses preuves dans l'hémisphère nord, qu'en est-il pour les régions tropicales ?

Dans de trop nombreux cas encore les tubercules de semence sont importés, ce qui se traduit par un coût élevé et/ou des problèmes d'approvisionnement. La solution, à court terme, passe par l'adaptation, en fonction des contraintes agro-économiques locales, de la production *in vitro* de tubercules sains. Les réussites dans ce domaine dans plusieurs pays tropicaux ou sud-méditerranéens attestent de l'efficacité de ces méthodes. De plus, ces techniques ouvrent la voie à la valorisation rapide de nouveaux cultivars issus d'une amélioration génétique prenant en compte la spécificité des conditions tropicales.

Exploitation et problèmes économiques

Jusqu'à une période récente, on peut considérer que la pomme de terre a été utilisée comme un légume d'appoint. La généralisation des pratiques alimentaires dominantes a conduit à un accroissement significatif de la production de pomme de terre en zones tropicales et la demande reste encore insatisfaite. Il convient donc de favoriser une extension des surfaces de culture cantonnées pour l'essentiel actuellement, pour des raisons rappelées plus haut, aux régions en altitude. Dans l'attente d'une amélioration génétique nécessaire, mais forcément à plus long terme, des études pour une meilleure gestion agronomique de la pomme de terre, dans ces conditions climatiques particulières, s'imposent. Il s'y ajoute la mise en œuvre de solutions pour la conservation des tubercules afin de limiter les pertes post-récoltes : élimination exagérée d'eau, attaques parasitaires, prédateurs ; sans parler de questions plus techniques comme l'adaptation de la teneur en matière sèche.

Pour tous ces problèmes, et nous avons vu qu'ils sont nombreux, on peut trouver localement des solutions à court terme ou tout au moins des possibilités d'accroître significativement les rendements. Mais les solutions à long terme sont différentes chez la pomme de terre et la patate douce. Dans ce dernier cas, il s'agit d'une plante vraiment tropicale, les ressources génétiques, sauvages et cultivées, peuvent être disponibles en fonction des programmes, il s'agit plutôt de définir les priorités. Pour la pomme de terre, compte tenu du fait que les variétés cultivées en zones tropicales ont, pour l'essentiel, été transférées de l'hémisphère nord, l'amélioration génétique est le point clé à condition qu'elle prenne en compte les principales contraintes identifiées.

En conclusion, pour revenir au titre de l'intervention « Biotechnologies et plantes à multiplication végétative : quelle stratégies? », quel est le bilan et que pouvons nous proposer ? Pour les deux exemples choisis, les réponses peuvent s'articuler autour de trois questions :

- Que savons-nous faire ? Gérer les méristèmes préexistants afin de préserver les ressources génétiques, assainir les semences et les rendre disponibles en quantité suffisante. Nous avons vu que, dans ces domaines, les techniques de bases de la culture *in vitro* étaient performantes et adaptées.
- Que pouvons-nous faire ? La tentation est de répondre : tout ! Pour ces deux exemples, et plus particulièrement pour la pomme de terre, toutes les biotechnologies dans le domaine cellulaire comme dans le domaine moléculaire sont disponibles. Elles peuvent donc être utilisées comme moyen de franchir les verrous de l'amélioration conventionnelle et d'accélérer le progrès génétique. Le problème réside dans le choix des priorités qui ne sont certainement pas les mêmes pour les régions tropicales.

- Que devons-nous faire ? Prendre en compte, avant tout, les exigences et les contraintes locales, qu'elles résultent des conditions climatiques ou/et du cadre socio-économique. Il ne s'agit plus seulement de mettre à disposition les biotechnologies mais de produire, grâce à leur aide, des cultivars performants, au sens large du terme, pour contribuer à la sécurité alimentaire.

Bibliographie

1. BLAKESLEY D., AL MAZROOEI S. HENSHAW G. (1995), Cryopreservation of tissue of sweet potato (Ipomoea batatas) : the use of sucrose and dehydration for cryoprotection. Plant Cell Reports, 15:259-263.
2. CAVALCANTE ALVES J.-M., SIHACHAKR D., ALLOT M., TIZROUTINE S., MUSSIO I., SERVAES A , DUCREUX G. (1994), Izozyme modifications and plant regeneration through somatic embryogenesis in sweet potato (Ipomoea batatas (L.) Lam.). Plant Cell Reports, 13:437-441.
3. CHARLES G., ROSSIGNOL L., ROSSIGNOL M. (1992), Environmental effects on potato in vitro. J. Plant Physiol., 139:708-713.
4. CHARLES G., ROSSIGNOL L., ROSSIGNOL M. (1995), Mise au point d'un modèle de développement et de tubérisation contrôlés et synchrones chez la pomme de terre. Acta Bot. Gallica, 142:289-300.
5. COLINET D., KUMMERT J. (1993), Identification of a sweet potato feathery mottle virus isolate from China (SPFMV-CH) by the polymerase chain reaction with degenerate primers. J. Virol. Methods, 45:149-159.
6. COLINET D., KUMMERT J., LEPOIVRE P. (1994), Molecular evidence that the whitefly transmitted sweet potato mild mottle virus belongs to a distinct genus of the Potyvirideae. Arch. Vi, 141:125-135.
7. COLINET D., KUMMERT J., LEPOIVRE P. and SEMAL J. (1996), Identification of distinct poty-viruses in mixedly-infected sweet potato by the polymerase chain reaction. Phytopathology, 84:65-69.
8. DÉSIRÉ S., COUILLEROT J.-P., VASSEUR J. (1995a), Dormance et germination des microtubercules de pomme de terre (Solanum tuberosum L.) produits *in vitro* : effets de la concentration en saccharose du milieu de tubérisation, de la durée de conservation à 4°C et d'un traitement avec de l'acide/gibberellique. Acta bot. Gallica, 142:371-378.
9. DÉSIRÉ S., COUILLEROT J.-P., VASSEUR J. (1995b), Germination en serre des microtubercules de Pomme de terre (Solanum tuberosum L.) produits *in vitro* · influence du diamètre, de la densité de plantation et de l'âge des microtubercules sur le rendement. Acta bot. Gallica, 142:379-387.
10. DUCREUX G., ROSSIGNOL L., ROSSIGNOL M. (1986), La pomme de terre. La Recherche, 17:193-203.
11. ELLISECHE D. (1996), Aspects physiologiques de la croissance et du développement. In La pomme de terre ; P. ROUSSELLE, Y. ROBERT et J.-C. CROSNIER, ed. INRA : 71-124
12. HATTORI T., NAKAGAWA T., MAESHIMA M., NAKAMURA K., ASAHIT (1985), Molecular cloning and nucleotide sequence of c DNA for sporamin, the major soluble protein of sweet potato tuberous roots. Plant Mol. Biol., 5:313-320.
13. JONES A., DUKES P.D. (1980), Heritabilities of sweet potato resistance to rootknot caused by Meloidogyne incognita and M. javanica. J. Am. Soc Hortic. Sci., 105:154-156.
14. KERLAN C., PRIOU S., JOUAN B., PASCO C., PRIOR P., SAMSON R., CORBIERE R., TIVOLI B., BEDIN P., DUVAUCHELLE S., ANDRIVON D., ELIMANE R. ET PERRATON B. (1996), Maladies In La pomme de terre ; P. ROUSSELLE, Y. ROBERT et J.-C. CROSNIER, ed. INRA : 231-336.
15. LEPOIVRE P., COLINET D. (1996), Impact of virus diseases in sweet potato in the Guangdong province of China. In Compte Rendus de l'atelier régional patate douce. Libreville, Gabon, 9-13 Janvier 1996, pp. 11-21.
16. NISHIYAMA I., MIYAZI T., SAKAMOTO S. (1975), Evolutionary autoploidy in the sweet potato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) and its progenitors. Euphytica, 24:197-208.
17. NOZERAN R., BANCILHON-ROSSIGNOL L., GRENAN S. (1977) Nouvelles possibilités d'obtention et de multiplication rapide de clones sains de pomme de terre (Solanum tuberosum L.). C. R. Acad. Sci. Paris, 285:37-40.

18. OTANI M., MII M., HANDA T., KAMADA H., SHIMADA T. (1993) Transformation of sweet potato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) plants by Agrobacterium rhizogenes. Plant Science, 94:151-159.
19. PRAKASH C.S., VARADARAJAN U. (1992), Genetic transformation of sweet potato by particle bombardment. Plant Cell Reports, 11:53-57.
20. SIHACHAKR D., DUCREUX G. (1987), Plant regeneration from protoplast culture of sweet potato (Ipomoea batatas Lam.). Plant Cell Rep., 6: 26-328.
21. SIHACHAKR D., DUCREUX G. (1993), Regeneration of plants from protoplasts of sweet potato (Ipomoea batatas L., Lam.). In Biotechnology in Agriculture and 22. Foretry, 23 Plant protoplasts and genetic engineering. Y.P.S.Bajaj ed. Springer Verlag:45-59.
23. SIHACHAKR D., HAÏCOUR R., CAVALCANTE ALVES J.M., UMBOH I., NZOGUE D., SERVAES A., DUCREUX G. (1997), Plant regeneration in sweet potato (Ipomoea batatas L, Convolvulacées). Euphytica, 96:143-152.
24. SPIRE D., ROUSSELLE P. (1996), Origine socio-historique. In La pomme de terre , P ROUSSELLE, Y. ROBERT, J.-C. CROSNIER, ed. INRA:25-48.

A3 : Les biotechnologies végétales : intégration chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), pivot de l'agriculture oasienne. Cas du Maroc.

EL HADRAMI I.[1]*, EL JAAFARI S.[2], DAAYF F.[1]

[1] Laboratoire de Physiologie Végétale, Département de Biologie, Faculté des Sciences-Semlalia, BP. S15, 40 001 Marrakech-Maroc.

(* pour toute correspondance)

[2] Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences, Meknès-Maroc

LE PALMIER DATTIER : QUELQUES DONNÉES CONCERNANT SON ÉCOLOGIE ET SON IMPORTANCE SOCIO-ÉCONOMIQUE

Le Palmier dattier joue un rôle non négligeable sur la scène socio-économique particulièrement dans les pays du Maghreb. C'est une monocotylédone qui fut dénommée *Phoenix dactylifera* par Linné en 1753. Cette dénomination relève de la forme des fruits, les dattes, qui se présentent sous forme de doigts (*dactylus* en latin). Le dattier fait partie de la famille des *Arecaceae* (*Palmaceae*) qui comprend environ 2600 espèces la plaçant parmi les monocotylédones au 4^{e} rang après les graminées, les liliacées et les orchidées.

Le Palmier dattier occupe des superficies considérables et se trouve représenté par environ 90 millions de plants de par le monde. Sa culture fût introduite dans différentes régions telles que les État-Unis d'Amérique, le Mexique, l'Argentine, l'Australie et l'Espagne. Les Palmeraies les plus importantes sont localisées en Afrique du Nord et au Moyen-Orient et constituent une source de vie pour plus de 10 millions d'habitants.

Phoenix dactylifera est connu comme étant l'arbre du désert qui plonge ses racines dans l'eau en mettant la tête au soleil. En effet, cette espèce pérenne pousse, en général, dans des cuvettes ou des dépressions présentant une nappe phréatique affleurante ou semi-affleurante. La présence de l'eau, entre autres, est primordiale permettant une production moyenne de 15 à 200 kg de dattes par arbre et par an. Cet écart dans la productivité est lié à la culture traditionnelle ou moderne du dattier mais également à la variété cultivée. Au Maroc, la production dattière a connu des facteurs de réduction de 10 en comparant des années sèches et pluvieuses. La datte produite représente le pain des habitants et, depuis longtemps, la clé de la sécurité alimentaire dans les oasis où elle est la base d'une activité commerciale, des échanges et des trocs contre les denrées alimentaires de première nécessité. À titre d'exemple, environ un million d'habitants au Maroc tirent 50 % de leur revenu à partir du dattier. En Tunisie, 10 % de la population dépend de l'agriculture oasienne où la datte occupe une place d'une importance certaine ; et en Algérie, le dattier représente le gagne-pain de près de 2,2 millions d'habitants.

Par ailleurs, le Palmier dattier est une espèce bien adaptée au climat saharien et sub-saharien. Sa présence dans ces zones marginalisées lui confère un rôle écologique

certain. Il limite ainsi l'avancement et l'agrandissement des espaces steppiques ou désertiques connus pour leur biodiversité et leur fragilité. Le dattier contribue également à limiter les dégâts d'ensablement dans ces régions oasiennes, et en jouant un rôle d'écran protecteur contre le rayonnement solaire intense dans ces zones chaudes du globe, il permet l'installation de cultures sous-jacentes diversifiées.

L'IMPORTANCE SOCIO-ÉCONOMIQUE ET ÉCOLOGIQUE DU SECTEUR PHOENICICOLE SERA-T-ELLE MAINTENUE DANS L'AVENIR ? ET QUEL EST OU SERA ALORS LE DEGRÉ D'INTÉGRATION DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES CHEZ LE DATTIER ?

Le dattier produit une seule fois par an (à l'exception d'un pourcentage plus ou moins négligeable des Palmiers du Niger où une deuxième production atypique survient en Avril-Mai). Ceci conduit les phoeniciculteurs à délaisser le dattier pour d'autres activités et cultures plus rentables. À terme, ce délaissement se traduit par le vieillissement des palmeraies et l'arrêt d'extension de l'aire de culture du système.

Par ailleurs, le dattier fait face actuellement à de nombreux problèmes. C'est le cas notamment de ***(i)*** la sécheresse des années 80 qui, au Maroc, a conduit à l'élimination d'environ 350 000 pieds ; ***(ii)*** l'installation de palmeraies oligo ou monovariétales orientant le marché vers l'exportation (cas de la Tunisie et de l'Algérie où la variété Deglet Nour occupe environ 50 %) et ***(iii)*** de certaines maladies telles que la maladie vasculaire connue sous le non de « bayoud » qui a abaissé, en un siècle, le patrimoine phoenicicole marocain de 15 millions de pieds à 4,25 millions actuellement. Au Maroc, devant cette situation alarmante, un plan de restructuration des palmeraies est lancé depuis 1978. Il a pour objectif, entre autres, de mettre à la disposition des phoeniciculteurs 3 millions de palmiers en 15 à 20 ans et de doubler la production de dattes vers 2007. Cependant les actions actuelles entamées depuis 1987 n'ont enregistré que 15 à 20 % des prévisions. De 1993 à 2007, la demande en vitroplants est estimée à 2,5 millions avec des besoins annuels dépassant les 200 000 plants.

LES MÉTHODES BIOTECHNOLOGIQUES PEUVENT-ELLES RÉPONDRE À CES BESOINS ET CES DÉFIS ?

Deux méthodes de micropropagation du dattier sont en cours de recherche et/ou de développement : l'organogenèse et l'embryogenèse somatique.

L'organogenèse permet d'obtenir des bourgeons et pousses adventives sur les tissus de plusieurs types d'explants (bourgeons axillaires, base de jeunes feuilles de cœurs de rejets, jeunes inflorescences...). Elle peut être directe ou indirecte en passant par un stade cal. L'embryogenèse somatique, quant à elle, appelée encore embryogenèse asexuée, désigne la formation en condition *in vitro* d'embryons à partir d'une ou plusieurs cellules somatiques ou germinales sans fusion gamétique. Les embryons somatiques produits sont, en principe, génétiquement identiques et capables de produire des clones à partir de génotypes donnés. Les explants utilisés sont pratiquement les mêmes que pour la technique d'organogenèse. Les explants provenant de la base de jeunes feuilles de cœurs de rejets ainsi que les inflorescences (Zaid et Tisserat 1983 ; Drira et Benbadis 1985 ; Zaid 1989 ; Ait-Chitt 1989 ; Aissam 1993 ; Bhaskaran et Smith 1992 ; Booij et al. 1993 ; Baaziz et al. 1994 ; El Hadrami 1995 ; El Hadrami et Baaziz 1995 ; El Hadrami et al. 1995) sont cependant les plus utilisés.

Ces deux techniques de micropropagation, l'organogenèse et l'embryogenèse somatique, se trouvent, malheureusement, limitées par de nombreux facteurs (Ait-Chitt 1989 ; Aissam 1993 ; El Hadrami 1995) qui résident essentiellement dans *(a)* la lenteur dans la réactivité des explants (1 à 2 ans pour obtenir des souches bourgeonnantes ou des embryons somatiques), *(b)* les coefficients de multiplication qui restent encore faibles et aléatoires chez certains cultivars actuellement proposés pour la multiplication, *(c)* la récalcitrance de certains cultivars, *(d)* le brunissement des tissus et des milieux qui entravent la multiplication et causent parfois des pertes totales en matériel végétal, *(e)* les pertes de vitroplants à l'acclimatation et en champ, et *(f)* la présence de contaminations endophytiques principalement des *Bacillus* qui causent des pertes considérables en matériel végétal et qui apparaissent à des temps variables allant de la première semaine à quelques mois après la mise en culture. Il a été montré que « l'apparition » tardive des bactéries coïncide avec la chute des teneurs en phénols dans les tissus ; et on assiste, généralement, à une multiplication importante des agents contaminants sur les tissus et les milieux non nécrosés par comparaison aux tissus et milieux qui le sont (El Hadrami 1995). Ainsi, il a été montré que la multiplication de ces *Bacillus* peut être considérablement réduite par l'apport d'antibiotiques ou encore par des composés phénoliques dans les milieux de culture (Cherkaoui 1997).

AU MAROC, QUEL EST L'ÉTAT ACTUEL DE L'INTÉGRATION DE L'OUTIL BIOTECHNOLOGIQUE CHEZ LE PALMIER DATTIER ?

Au Maroc, on note l'utilisation privilégiée de la technique d'organogenèse qui, en principe, permet une certaine authenticité variétale. Ainsi, en terme de multiplication, 140 000 vitroplants issus d'une vingtaine de génotypes marocains ont été produits par cette méthode. Ceci ne représente malheureusement que moins de 15 à 20 % par rapport aux besoins et aux prévisions du programme de réhabilitation des palmeraies au Maroc. *A long terme, n'existe-t-il pas un danger d'érosion génétique progressive du patrimoine phoenicicole en n'utilisant que la seule technique d'organogenèse et en ne proposant à cette technique que les cultivars qui intéressent les phoeniciculteurs?*. Plus de 200 variétés de palmier traditionnellement multipliées ne sont pas encore proposées pour leur multiplication *in vitro*. En terme de transformation génétique du dattier, tout reste à faire. A titre d'exemple, la sélection sur le terrain a mis en évidence la présence de quelques cultivars résistants au « bayoud ». Quels sont les mécanismes biochimiques et moléculaires impliqués dans cette résistance?; quel est ou sont les gènes de résistance ? Et peut-on transférer ce ou ces gènes d'une variété à l'autre et par quelle voie ? Ce ne sont là que quelques questions qui restent encore posées et qui donnent du fil à tordre pour les chercheurs et les améliorateurs de l'espèce.

POURQUOI ACCUSE-T-ON CE RETARD PAR RAPPORT AUX PRÉVISIONS DU PROGRAMME NATIONAL DE RESTITUTION ET RÉHABILITATION DES PALMERAIES MAROCAINES ?

Le retard en ce qui concerne la multiplication et l'amélioration génétique du dattier est en partie lié à l'utilisation de la seule technique d'organogenèse. L'intégration de l'embryogenèse somatique, technique connue pour ses coefficients de multiplication élevés dans les programmes de multiplication et d'amélioration génétique s'impose actuellement plus que jamais pour combler le déficit en vitroplants et, entre autres, élargir et maintenir la biodiversité de l'espèce. Le retard est également lié à la récalcitrance de nombreux cultivars vis-à-vis de la multiplication *in vitro* mais aussi au manque d'infrastructures suffisantes et de compétences humaines sans oublier les

différentes contraintes qui limitent la réussite à grande échelle des techniques de multiplication.

QUE FAUT-IL FAIRE POUR RATTRAPER LE RETARD ET COMBLER LE DÉFICIT EN VITROPLANTS ?

Le Palmier dattier est une espèce pérenne à multiplication lente. Dans tous les pays phoenicicoles et particulièrement au Maroc où une réduction des deux tiers des palmeraies s'est opérée en moins d'un siècle, les programmes de réhabilitation et d'extension de l'aire de culture du dattier ne peuvent aboutir sans le développement d'une recherche multidisciplinaire continue et intensifiée pour lever les contraintes qui entravent sa multiplication *in vitro*. Ils ne peuvent également donner des résultats satisfaisants à moyen terme sans la mise en place d'infrastructures suffisantes (laboratoires spécialisés) et la formation de compétences humaines dans le domaine.

En conclusion, on peut relever que l'application des méthodes biotechnologiques chez le dattier se trouve encore à l'état embryonnaire et particulièrement au Maroc. Les coefficients de multiplication souhaités sont encore loin d'être atteints et tout reste à faire en ce qui concerne les stratégies de transformation pour l'amélioration génétique de cette espèce de grande importance socio-économique. On peut espérer, dans les quelques années à venir, par l'emploi de moyens technologiques et biotechnologiques (variétés mieux adaptées et plus productives, datte à longue durée de conservation, multiplication intensive et extension de l'aire de culture du dattier...) la remise en valeur des oasis où la sécurité alimentaire est étroitement liée au dattier.

Remerciements

Ce travail est réalisé dans le cadre du Fonds Francophone de la Recherche « Jeune Équipe de Recherche associée à l'AUPELF-UREF, JER 3008 » et Bourse de Recherche de l'AUPELF-UREF. Il bénéficie également d'une Bourse de Reherche de la FIS (FIS, D/1937-2).

Bibliographie

1. AISSAM F. (1993), Thèse de 3e cycle, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences-Semlalia, Marrakech-Maroc : 109 p.
2. AIT-CHITT M. (1989), Problèmes rencontrés en culture *in vitro* du Palmier dattier par la technique d'organogenèse. C.R. II Séminaire Maghrébin sur la multiplication rapide du Palmier dattier par les techniques de culture *in vitro*. Marrakech, 9-12 Octobre 1989·27-36.
3. BAAZIZ M., AISSAM F., BRAKEZ Z., BENDIAB K., EL HADRAMI I., CHEIKH R. (1994), Electrophoretic patterns of acid soluble proteins and active isoforms of peroxidase and polyphenoloxidase typifying calli and somatic embryos of two reputed date palm cultivars in Morocco. Euphytica 76:159-168.
4. BHASKARAN S., SMITH R.H. (1992), Somatic embryogenesis from shoot tip and immature inflorescence of *Phoenix dactylifera* cv. barhee. Plant Cell Reports 12:22-25.
5. BOOIJ I., MONFORT S., MACHEIX J.J. (1993), Relationships between peroxidases and budding in date palm tissues cultured *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 35:165-171.
6. CHERKAOUI B. (1997), Thèse de 3e cycle, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences-Semlalia, Marrakech-Maroc.

7. DRIRA N., BENBADIS A. (1985), Multiplication végétative du Palmier dattier par réversion en cuture *in vitro* d'ébauches florales de Reds femells. J. Plant Physiol., 119:227-232.
8. EL HADRAMI I. (1995), Thèse d'Etat en Biotechnologie et Physiologie Végétales, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences-Semlalia, Marrakech-Maroc: 227 p.
9. EL HADRAMI I., BAAZIZ M. (1995), Somatic embryogenesis and analysis of peroxidases in *Phoenix dactylifera* L.. Biologia Plantarum 37(2):197-203.
10. EL HADRAMI I., CHEIKH R., BAAZIZ M. (1995), Somatic embryogenesis and plant regeneration from shoot-tip explants in *Phoenix dactylifera* L.. Biologia Plantarum 37(2):205-211.
11. Options Méditerranéennes (1996), Le Palmier dattier dans l'Agriculture d'Oasis des Pays Méditerranéens. Ed. CIHEAM : 260 p.
12. ZAID M. (1989), Thèse d'Université, Université Paris-Sud, Centre d'Orsay, 92 p.
13. ZAID A., TISSERAT B. (1983), *In vitro* shoot tip differenciation in *Phoenix dactylifera* L. Date palm J., 2:163-182.

A4 : Apport des biotechnologies à l'amélioration des bananiers. Résultats et perspectives.

HAICOUR R.[1], BUI TRANG V.[2], DHED'A D.[3], BAKRY F.[4], COTE F.X.[4]

[1] Laboratoire de Morphogenèse végétale expérimentale, Bât 360, Université de Paris Sud XI, 91405 Orsay Cedex. (France)

[2] Laboratoire de Physiologie Végétale, Khoa Sinh, DHTH, Hôchiminh-Ville, Vietnam.

[3] Université de Kisangani Faculté des Sciences C/o Ridja D. Buma, SOTEXKI B.P. 14897 Kinshasa Zaïre

[4] CIRAD-FLHOR, Avenue Val de Montferrand, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

Les plus anciennes références aux bananiers sont écrites en sanscrit et datent de 500 ans avant J.-C. Le Grec ancien consigne la campagne d'Alexandre le Grand en Inde en 327 avant J.-C. et on y mentionne la banane. Pline l'ancien rapporte sur les bananiers (pala) dans son histoire naturelle. Plus tard la banane apparaît tant chez les musulmans que chez les chrétiens comme le fruit défendu du Paradis.

Les bananiers sont cultivés essentiellement pour la consommation de leurs fruits. Cependant les diverses portions de la plante donnent lieu à des utilisations telles que couverture d'abris ou emballage des denrées alimentaires avec les feuilles ou portions de limbes, alimentation du bétail ; confection de flotteurs avec les pseudo troncs ; fourniture de fibres provenant des faisceaux libéro-ligneux des gaines foliaires ; décoration avec les inflorescences ; dégustation sous forme de légume du bourgeon inflorescentiel en phase mâle ; modèles architecturaux pour la décoration de lieux de culte.

Les bananiers et bananiers plantains sont cultivés dans le monde sur les cinq continents, dans près de 120 pays des zones tropicales et subtropicales.

Les productions bananières ont un rôle majeur à différents niveaux : alimentaire (c'est la nourriture de base d'une population estimée à plus de 400 millions d'individus) social et économique ainsi qu'à celui de l'environnement.

La production annuelle a été estimée à plus de 81 millions de tonnes (FAO 1994) dont 36 % issus de l'Amérique Latine, 34 % de l'Afrique et 29 % de l'Asie et pacifique.

On distingue deux grandes filières de production : celle des bananiers en culture pure dont les fruits sont destinés à l'exportation qui représente moins de 10 % de la production totale de bananes et celle des bananiers en polycultures destinés à l'approvisionnement des marchés locaux. Cette production vivrière provient de petites exploitations familiales dans lesquelles les résidus fournissent du paillis et les feuillages assurent une protection pour d'autres plantes telles que haricots, arachides, caféiers.....

DONNÉES BIOSYSTÉMATIQUES

Les bananiers sont des monocotylédones, zingibérales de la famille des musacées appartenant au genre *Musa* section *eumusa* (2n = 22).

Les bananes comestibles sont issues, pour l'essentiel, de deux espèces sauvages diploïdes, *M. acuminata* (génome A) et *M. balbisiana* (génome B). Les plantes de ces deux espèces portent des fruits remplis de graines et se reproduisent aussi bien par voie sexuée que par multiplication végétative à partir des rejets provenant du développement des bourgeons axillaires souterrains portés par un corme. Les processus d'évolution et de domestication ont abouti à la sélection par l'homme de variétés stériles et parthénocarpiques chez lesquelles la pollinisation des fleurs n'est plus nécessaire pour la formation des fruits.

Les variétés actuelles consommées sont, pour la plupart, des clones triploïdes stériles, aspermes, issus tantôt de la seule espèce *M. acuminata* (groupe AAA), tantôt de croisements interspécifiques entre les espèces *M. acuminata* et *M. balbisiana* (groupe AAB et ABB). Il existe plus rarement des variétés diploïdes (AA et AB) et des clones tétraploïdes de nature interspécifique.

UNE CULTURE FRAGILISÉE PAR LES MALADIES ET LES PRÉDATEURS

Les bananiers se comportent comme des herbes géantes et perennes pour lesquelles la rotation de culture avec d'autres végétaux n'est guère pratiquée. D'autres caractéristiques viennent renforcer la vulnérabilité de cette production :

- le mode de propagation végétatif ;
- des cultures industrielles monoclonales. À l'heure actuelle, la totalité de la production des bananiers pour l'exportation provient du seul sous-groupe Cavendish où les cultivars ne diffèrent entre eux que par des mutations. Il ne s'agit au total que d'une dizaine de clones : Lacatan, Valéry, Poyo, Grande Naine et Petite Naine William... distingués par leur taille et quelques caractères associés.

Tous ces cultivars sont difficiles à différencier les uns des autres par les méthodes les plus fines de la biologie moléculaire. Par ailleurs, ils ont sensiblement le même comportement vis-à-vis du complexe parasitaire.

- une extension des maladies à travers le monde ;
- l'apparition de nouvelles races d'agents pathogènes.

Outre une modification des pratiques culturales, l'amélioration des variétés existantes et la création de nouveaux cultivars résistant aux maladies permettraient d'éviter une baisse de productivité, alors que corrélativement, les besoins s'accroissent, ne serait-ce qu'en liaison avec la démographie.

En effet, pour la plupart des affections (maladie de Panama due au *Fusarium oxysporum*, maladie de Moko due au *Pseudomonas solanacearum*, le Bunchy Top dû au virus BBTV), il n'y a pas de traitement chimique fiable. La destruction des plantes atteintes est la seule méthode efficace de contrôle. Pour les autres maladies (prédateurs tels que charançons, nématodes, maladie des raies noires due au *Mycosphaerella fijiensis*...) le coût des traitements chimiques s'accroît d'autant que de nouvelles souches très virulentes apparaissent. Ce coût devient donc prohibitif pour les petits fermiers, les traitements étant parfois même difficile à réaliser du fait de la dispersion des bananiers de case, voire dangereux pour l'environnement. Il faut donc avoir recours à d'autres méthodes afin de pourvoir les actuels cultivars de résistances ou de créer de nouveaux génotypes performants dans ce contexte de contraintes.

L'AMÉLIORATION DES BANANIERS

La création variétale par croisements

Cette stratégie est menée dans le monde par de nombreux groupes de chercheurs appartenant au CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) à la FHIA (Fundación Hondureña de Investigación Agrícola), à l'IITA (International Institute of Tropical Agriculture) au CRBP (Centre de Recherches Régionales sur Bananiers et Plantains) à l'EMBRAPA-CNPMF (Centro National de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical)...

Deux stratégies radicalement différentes sont utilisées pour le bananier. La première vise l'obtention de variétés tétraploïdes, la seconde l'obtention de variétés triploïdes.

En dépit de leur forte stérilité, certaines variétés triploïdes produisent de rares gamètes maternels non réduits (n = 3x = 33) qui, après pollinisation avec un clone diploïde, seront à l'origine de graines contenant des embryons tétraploïdes, susceptibles de germer (Menendez et Shepherd, 1975 ; Bakry et Horry, 1992). La première stratégie de croisement consiste à associer l'intégralité du génome de la variété cultivée, issue de gamète non réduit, à un génome paternel haploïde porteur de résistances, pour créer des hybrides tétraploïdes proches de la variété maternelle de référence et résistants aux maladies.

Le CIRAD pour sa part a développé une stratégie originale d'amélioration basée sur la création de triploïdes à partir du matériel végétal diploïde naturel ou amélioré (Bakry et al., 1990). Après avoir été sélectionnés, les meilleurs diploïdes sont traités à la colchicine pour induire la formation d'auto ou d'allotétraploïdes. Ces tétraploïdes et d'autres diploïdes sont ensuite croisés en vue de la synthèse d'individus triploïdes.

Apports des biotechnologies à l'amélioration des bananiers

En complément aux programmes d'amélioration génétique par croisement, des méthodes non conventionnelles ont été ou sont en cours de développement afin de lever certains verrous liés en particulier a la biologie des bananiers cultivés.

La micropropagation in vitro des bananiers par la prolifération de méristèmes végétatifs *in vitro* a connu un essor remarquable au cours de cette dernière décennie (pour revue Cronauer et Krikorian 1986). Cette méthode est maintenant largement utilisée pour échanger du matériel génétique, mais aussi pour produire du matériel de plantation. Avec un marché annuel estimé à 40 millions de vitroplants, le bananier est l'une des plantes de grande culture, les plus multipliées *in vitro*. L'intérêt du vitroplant est lié à sa bonne qualité sanitaire vis-à-vis des ravageurs, bactéries et champignons, à sa rapidité de multiplication, à ses performances agronomiques. En particulier, l'utilisation des vitroplants permet de mieux contrôler les infestations racinaires de nématodes (*Radopholus similis*), l'une des principales contraintes de la culture.

Cela étant, de nombreuses variations morphologiques et agronomiques sont apparues sur des plantes issues de prolifération *in vitro* (Vuylsteke et al., 1991). Le développement de la micropropagation nécessite donc une maîtrise des causes de la non conformité des vitroplants (Côte et al., 1993). En corollaire plusieurs équipes de recherche se sont attachées à accroître la variabilité des bananiers du sous-groupe Cavendish par l'exploitation de ces variations somaclonales (Daniells et Smith, 1993) ou encore par l'induction artificielle de mutations (Novak et al., 1990).

Ainsi, par exemple, un clone variant, Pei-Chiao, a été sélectionné à Taïwan pour sa résistance à la maladie de Panama race 4. Ce clone alors porteur de caractères agronomiques défavorables, après avoir été multiplié *in vitro*, a fait l'objet d'une autre

sélection, débouchant sur des individus résistants à la maladie et améliorés pour les caractères de production (Tang et Hwang, 1994).

• *L'approche moléculaire*

Les marqueurs moléculaires RFLP nucléaires et cytoplasmiques ont permis de caractériser la variabilité génétique, de déterminer le taux d'hétérozygotie de certains clones et de préciser les relations phylogénétiques entre les formes sauvages et les formes cultivées (Carreel et al., 1994).

Par ailleurs, une première carte génétique du bananier a abouti au positionnement de 90 loci (58 marqueurs RFLP, 4 marqueurs isozymes et 28 marqueurs RAPD) dont 77 ont pu être répartis en 15 groupes de liaisons et 13 loci indépendants. Cette carte a été complétée avec 30 marqueurs microsatellites. Une seconde carte a été établie : elle comporte environ 350 marqueurs répartis en 11 groupes de liaisons correspondant au nombre génomique de base des bananiers (Noyer et al., 1997). L'étude combinée de ces deux cartes a permis d'établir la première ébauche d'une carte squelette basée sur 130 marqueurs « locus spécifique » qui pourra être mise à profit pour poursuivre des stratégies de sélection assistée par marqueurs.

• *Les haplométhodes*

À l'exception des bananiers sauvages, tous les diploïdes utilisés en hybridation présentent une hétérozygotie génique (20 à 70 %) et de l'hétérozygotie structurale (translocations et inversions de portions de chromosomes), qui renforcent leur stérilité et induisent une forte variabilité des populations gamétiques quand elles existent. L'efficacité des programmes d'amélioration pourrait être accrue en utilisant des lignées plus fertiles. Les premières plantes androgénétiques de bananiers ont été obtenues par culture d'anthères du clone sauvage « *Long Tavoy* » de l'espèce *M. acuminata* (Bakry et Horry, 1992). Les facteurs qui gouvernent l'induction des cals androgénétiques (stades de prélèvement des anthères, milieux de culture) et la régénération de plantes entières ont pu être précisés par la suite. À ce jour, de nombreux cals et plantes haploïdes et diploïdes ont été obtenus à partir de différents clones de *M. acuminata* et de *M. balbisiana*. Parmi les utilisations des structures haploïdes, il convient de mentionner dès à présent les protoplastes issus de cals androgénétiques, comme éléments parentaux pour la fusion de protoplastes.

• *La culture d'embryons zygotiques*

Les graines de bananiers qui résultent des pollinisations manuelles sont souvent mal formées et présentent parfois des défauts de maturation. En semis de pépinière, leur taux de germination est très faible, de l'ordre de 0 à 25 % selon les croisements. Le sauvetage d'embryons *in vitro* a permis d'augmenter très significativement ce taux, puisqu'il peut atteindre jusqu'à 95 % dans les conditions optimales d'utilisation (Bakry et Horry, 1992). Dans les programmes d'amélioration des bananiers, le recours à cette technique a permis d'obtenir des descendances plus nombreuses et d'accéder à de nouvelles combinaisons parentales.

• *Le développement des suspensions cellulaires*

Les suspensions cellulaires chez les bananiers correspondent à la mise en place d'un nouvel outil. En effet, elles sont à l'origine du développement de l'embryogenèse somatique, de la mise en œuvre de la cryoconservation, des transformations génétiques et sont le matériel le plus utilisé comme source de protoplastes.

L'initiation de suspensions cellulaires embryogènes a été réalisée à partir :

- de cals embryogènes issus d'embryons immatures de taxons diploïdes séminifères (Escalant et Teisson, 1988 ; Chatelet, 1992 ; Marroquin et al., 1993) ;
- de cals originaires de tissus du corme ou de la base des jeunes feuilles (Novak et al., 1989) ;
- de scalps provenant de la prolifération d'apex de rejets cultivés *in vitro* (Dhed'a et al., 1991) ;
- de cals embryogènes issus de culture de jeunes mains mâles (Escalant et al., 1994).

Ces suspensions peuvent donner naissance à d'énormes quantités d'embryons somatiques, qui pourraient être utilisés comme moyen de propagation, méthode alternative à la micropropagation ci-dessus évoquée (sous réserve d'études en cours, de la conformité des plantes ainsi régénérées).

La cryoconservation a été envisagée pour conserver à long terme les ressources génétiques de bananiers. Cette technique évite le repiquage des plantes *in vitro* qui représente une lourde charge de travail pour l'entretien de grandes collections et peut aussi générer l'apparition de mutations et occasionner des pertes d'accessions par des contaminations ou des erreurs (Panis et al., 1990). Associée à l'embryogenèse somatique, la cryoconservation permet de stocker, sous la forme de suspensions cellulaires congelées, une production industrielle de vitroplants.

• *La culture de protoplastes et les fusions somatiques*

D'une façon générale on considère que les protoplastes de bananiers sont récalcitrants. Cependant, à condition de les cultiver sur couche nourricière, et/ou à très forte densité, deux équipes ont obtenu des régénérants (Megia et al., 1993 ; Panis et al., 1993).

Jusqu'à présent, seuls les protoplastes provenant de suspensions cellulaires embryogènes ont présenté une aptitude au développement conduisant dans les cas les plus favorables à la régénération directe via l'embryogenèse somatique. Certaines de ces plantes sont en cours d'évaluation agronomique pour étudier l'incidence de l'étape « protoplaste » sur les variations somaclonales.

Ce verrou étant levé il est désormais possible d'envisager la fusion de protoplastes dans l'optique d'un élargissement de la variabilité. Cette méthode permettrait d'accélérer les croisements ou même d'effectuer des croisements difficiles ou impossibles à réaliser par hybridation classique compte tenu de la stérilité de certains « géniteurs » diploïdes. L'hybridation somatique est d'abord envisagée entre bananiers diploïdes pour créer des tétraploïdes puis des triploïdes par rétrocroisement. La création de triploïdes synthétiques par fusion de protoplastes haploïdes et diploïdes fait partie d'un programme de recherches soutenu par la communauté européenne. En outre, l'obtention de protoplastes d'origine foliaire a été réalisée. Ils pourront également être utilisés dans les protocoles de fusion même s'il ne sont pas régénérants en l'état de protoplastes parentaux. Enfin les protoplastes considérés comme unité cellulaire autorisent la mise en œuvre des transformations par électroporation (Sagi et al., 1994) ce qui sur le plan théorique devrait éviter la formation de chimères.

• *La transformation génétique*

Les travaux concernant la mise au point des techniques de transformation génétique chez les bananiers sont très récents. Ils impliquent plusieurs centres de recherche spécialisés dans les biotechnologies qui sont pour l'essentiel l'Université Catholique de Leuven, l'Université du Texas, le CATIE, l'IAEA et le CIRAD.

Les premiers résultats ont conduit à l'obtention de transformants stables de bananier par des bombardements de particules appliqués à des suspensions cellulaires (Sagi et al., 1995) et par des inoculations d'*Agrobacterium tumefaciens* sur des sections de méristèmes végétatifs cultivés *in vitro* (May et al., 1995). L'essentiel des efforts de recherche a été jusqu'à maintenant consacré à la mise au point des méthodes de transfert de gènes. Le transfert de gènes d'intérêt agronomique pourrait cependant débuter dans un avenir proche. Parmi ceux-ci, une priorité serait accordée aux gènes de résistance aux virus (Cucumber Mosaic Virus, Banana Bunchy Top Virus), compte tenu de l'absence de bananier naturellement résistant et de l'émergence de stratégies visant l'acquisition de ces résistances par transformation génétique. Par ailleurs, les dégâts majeurs occasionnés par les charançons et les nématodes chez les bananiers justifient que les programmes de recherche soient initiés rapidement (inhibiteurs de protéases, gènes de *Bacillus thuringiensis*...). De la même façon, les dégâts très importants causés par les organismes fongiques du genre *Mycosphaerella* motivent déjà des recherches de gènes de résistance aux champignons (chitinases, protéines antifongiques,...). La modification de voies métaboliques pour le contrôle de la maturation des fruits (gène antisens de l'ACC synthase) est envisagée par plusieurs équipes. La possibilité de produire, dans la banane, l'antigène de l'hépatite B dans le but de disposer d'un vaccin oral est en cours d'étude par l'Université de Cornell (USA). Elle pose cependant des questions relevant de la bioéthique.

En guise de **conclusion**, force est de constater que les bananiers sont des plantes d'intérêt ; cependant il y a peu de temps que l'on s'est intéressé à eux sous un angle biotechnologique. Lors de la dernière décade, grâce à ces nouvelles approches, la connaissance de ces plantes s'est considérablement accrue. Les outils ainsi forgés ont déjà permis une meilleure diffusion du matériel végétal, la création de nouveaux génotypes. L'ensemble de ces techniques contribue et contribuera sans nul doute à l'amélioration tant qualitative que quantitative de la production bananière, et participent donc à l'établissement de la sécurité alimentaire.

Bibliographie

1. BAKRY F., HORRY J.-P. (1992), Evidence for androgenesis in bananas. In : Book of Poster Abstract, XIIIth EUCARPIA Congress, July 06-11th 1992, Angers, France : 133-134.
2. BAKRY F., HORRY J.-P. (1992), Tetraploid hybrids from interploid 3x x 2x crosses in cooking bananas. Fruits, 47:641-647.
3. BAKRY F., HORRY J.-P., TEISSON C., TÉZENAS DU MONTCEL H., GANRY J (1990), L'amélioration génétique des bananiers à l'IRFA-CIRAD. Fruits, n° spéc. : 25-40.
4. CARREEL F., FAURÉ S., GONZALES DE LÉON D., LAGODA P.J.L., PERRIER X., BAKRY F., TÉZENAS DU MONTCEL H., LANAUD C., HORRY J.-P. (1994), Évaluation de la diversité génétique chez les bananiers diploïdes (Musa sp.). Génétique, sélection, évolution, 26 (suppl. 1):125-136.
5. CHATELET C. (1992), Régénération chez *Musa* sp. : recherche des conditions d'établissement de suspensions cellulaires d'espèces diploïdes et triploïdes. Thèse de doctorat de l'université de Montpellier II 84 p.
6. CÔTE F.X., DOMERGUE R., MONMARSON S., SCHWENDIMAN J., TEISSON C., ESCALANT J.V. (1996), Embryogenic cell suspensions from the male flower of *Musa* AAA (cv. Grand Nain). Physiologia Plantarum 97:285-290.
7. CÔTE F.X., Sandoval J., Marie P., Auboiron E. (1993). Variations in micropropagated bananas and plantains : literature survey. Fruits, 48 : 15-23.

8. CRONAUER S.S., KRIKORAN A.D. (1986). Banana. In : Biotechnology in agriculture and forestry : volume 1, Y.P.S. Bajaj éd., Berlin, Allemagne, Springer-Verlag, p. 233-252.
9. DANIELLS J.W., SMITH M.K. (1993). Somatic mutation of bananas : their stability and potential. In : Proceedings of the international symposium on recent developments in banana cultivation technology, R.V. Valmayor et al. éd., Los Banos, Philippines, INIBAP-ASPNET, p. 162-171.
10. DHED'A D., DUMORTIER F., PANIS B., VUYLSTEKE D., DE LANGHE E. (1991), Plant regeneration in cell suspension cultures of cooking banana cv. « Bluggoe » (*Musa* spp. ABB group). Fruits, 46:125-135.
11. DODDS K.S. (1943), Genetical and cytological studies of Musa. V. Certain edible diploids. Journal of Genetics, 45:114-137.
12. ESCALANT J.V., TEISSON C. (1988). Embryogenèse somatique chez *Musa* sp. C.R. Acad. Sci. 306 (III) 227-281.
13. ESCALANT J.V., TEISSON C., CÔTE F.X. (1994). Amplified somatic embryogenesis from male flowers of triploid banana and plantain cultivars (Musa sp.). *In vitro* Cellular and Developmental Biology, 30:181-186.
14. MARROQUIN C.G., PADUSCHECK C., ESCALANT J.V. et al (1993), Somatic embryogenesis and plant regeneration through cell suspensions in *Musa acuminata*. *In vitro* Cell . Dev. Biol,29:43-46.
15. MAY G.D., AFZA R., MASON H.S., WIECKO A., NOVAK F.J., ARNTZEN C.J. (1995), Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via Agrobacterium-mediated transformation. Bio/Technology, 13:486-492.
16. MEGIA R., HAÏCOUR R., TIZROUTINE S., BUI TRANG V., ROSSIGNOL L., SIHACHAKR D., SCHWENDIMAN J. (1993). Plant regeneration from cultured protoplasts of the cooking banana cv « Bluggoe » (Musa ssp. AAB group). Plant Cell Reports, 13:41-44.
17. MENENDEZ T., SHEPHERD K. (1975). Breeding new bananas. World Crops, May-June . 104-112.
18. NOYER J.-L., DAMBIER D., GRIVET L, LANAUD C., LAGODA P. (1997), A saturated map of diploid banana, *Musa acuminata* (microsatellites, RFLP, Isozymes, RAPD and AFLP). Plant and animal genome V, San Diego, USA. In press.
19. NOVAK F.J., AFZA R., VAN DUREN M., PEREA-DALLOS M., CONGER B.V., XIOLANG T. (1989), Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspension cultures of dessert (AA, AAA) and cooking (AAB) bananas. Bio/Technology, 46:125-135.
20. NOVAK F.J., AFZA R., VAN DUREN M., OMAR M.S. (1990), Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot tips of banana and plantain (Musa cvs.). Tropical Agriculture, 67:21-28.
21. PANIS B., WITHERS L., DE LANGHE E. (1990), Cryopreservation of *Musa* suspensions cultures and subsequent regeneration of plants. Cryo-Letters, 11:337-350.
22. PANIS B., VAN WAUVE A., SWENNEN R. (1993), Plant regeneration through direct somatic embryogenesis from protoplasts of banana (*Musa ssp.*). Plant Cell Reports, 12:403-407
23. SAGI L., REMY S., PANIS B., SWENNEN R., VOLCKAERT G. (1994), Transient gene expression in electroporated banana protoplasts (Musa spp.cv. « Bluggoe », ABB group) isolated from embryogenic cell suspensions. Plant Cell Rep, 13:262-266.
24. SAGI L., PANIS B., REMY S., SCHOOFS H., DESMET K., SWENNEN R., CAMMUE B. (1995), Genetic transformation of banana and plantain (Musa spp.) via particle bombardement. Bio/Technology, 13:481-485.
25. TANG C.Y., HWANG S.C. (1994), Musa mutation breeding in Taiwan. In The improvement and testing of Musa : a global partnership, La Lima, Honduras, 27-30 avril 1994. Montpellier, France, INIBAP, p. 219-227.
26. VUYLSTEKE D., SWENNEN R., DE LANGHE E. (1991), Somaclonal variation in plantains (Musa spp. AAB group) derived from shoot-tip culture. Fruits, 46:429-439.

A5 : Impact des travaux d'amélioration génétique et de biotechnologie du CRBP sur les productions de bananiers pour les consommations locales en Afrique de l'Ouest et Afrique Centrale

AUBOIRON E., ACHARD R., TOMEKPE K., NOUPADJA P., TCHANGO TCHANGO J.
CRBP - BP 832 Douala - Cameroun

INTRODUCTION

Les bananiers, et plus particulièrement le sous-groupe AAB plantain, constituent la première ressource alimentaire des régions Ouest et Centre de l'Afrique avec une consommation de l'ordre de 150 kg par personne et par an d'après la FAO. Or, ces cultures sont durement attaquées par plusieurs agents pathogènes dont essentiellement les champignons responsables des cercosporioses noire et jaune (*Mycosphaerella fijiensis* et *M. musicola*), des nématodes (*Rhadopholus similis*,...), le charançon noir (*Cosmopolites sordidus*) et différents virus (CMV, BBMV, BSV, BBTV,...).

En conséquence, les rendements et la durée de vie des plantations sont réduits. Le maintien des surfaces et éventuellement l'accroissement de celles-ci nécessitent une quantité de matériel végétal difficile à réunir avec la seule exploitation des rejets produits dans les parcelles existantes. De plus, la médiocre qualité de ce matériel végétal contribue à la propagation des parasites.

Le seul moyen de lutte actuellement efficace contre les champignons implique des traitements chimiques hors de portée de la grande majorité des planteurs. La lutte contre les nématodes et les charançons implique également l'utilisation de pesticides mais l'impact de ces parasites peut être grandement réduit par la plantation de matériel végétal sain sur des terrains sains ou assainis. Pour les viroses, le seul moyen de lutte connu à ce jour est l'éradication des plants atteints.

Cependant, des variétés résistantes aux différents agents pathogènes existent et plusieurs hybrides résistants à la cercosporiose noire ont d'ores et déjà été créés. Les autres agents pathogènes commencent à être considérés dans les programmes de création variétale et les nouvelles voies d'amélioration, incluant les biotechnologies, permettront d'importants progrès.

Le CRBP[1] possède une triple vocation : recherche, développement et formation. Au niveau national (Cameroun), il a pour rôle de répondre aux problèmes qui se posent aux productions bananières pour les consommations locales. Au niveau régional (Centre et Ouest de l'Afrique), il met en place des coopérations scientifiques et techniques destinées à résoudre les problèmes communs à l'ensemble de la région. Au niveau international, il développe ses thèmes de recherche en relation avec différents centres de recherche (CIRAD-FLHOR, CATIE, Université de Louvain, ODA-NRI, INIBAP/IPGRI). Les travaux du CRBP se basent sur des recherches pluridisciplinaires considérant l'ensemble de la filière, du producteur jusqu'au consommateur.

La diffusion de matériel végétal de plantation est un des axes majeurs de l'activité de développement. Elle a pour objectifs de satisfaire la demande en matériel végétal de

plantation de qualité, de promouvoir la plantation de matériel sain sur terrain sain et de mettre à la disposition des planteurs de nouveaux cultivars plus performants adaptés aux besoins locaux.

STRATÉGIE

La première étape est la mise au point des outils nécessaires à la réalisation du projet, notamment en biotechnologie, et la sélection de variétés et d'hybrides performants. Afin de mieux répondre aux besoins spécifiques à ces régions, le CRBP mène son propre programme d'amélioration variétale qui vise à créer des hybrides de type plantain résistants à la cercosporiose noire, aux nématodes et aux charançons. Des accords de partenariat sont établis avec différentes structures de recherche et développement implantées dans les zones de production. Le CRBP assure un appui technique, la formation technique et la fourniture de vitroplants. La gamme de variétés sélectionnées est proposée à nos partenaires pour constituer des parcelles de démonstration des potentialités de ces variétés dans les différentes zones de production. Les variétés retenues par les planteurs, et également par les consommateurs, sont ensuite introduites en plus grand nombre pour constituer des parcelles de multiplication rapide de rejets qui fourniront le matériel de plantation à distribuer aux planteurs. Les informations obtenues sur l'intérêt de chacune des variétés dans les différentes zones de production, les types d'utilisation des fruits des nouvelles variétés ainsi que les contraintes particulières permettent de mieux cibler les nouvelles actions à entreprendre. Les nouvelles sélections sont progressivement intégrées.

IMPLICATION DES BIOTECHNOLOGIES

Les biotechnologies constituent un ensemble d'outils qui interviennent à différents niveaux dans ce projet.

En premier lieu, la micropropagation par prolifération de bourgeons est utilisée couramment pour produire les vitroplants nécessaires à la diffusion de matériel végétal et répondre aux besoins de la recherche. Elle permet de garantir l'aspect sanitaire du point de vue des nématodes et charançons. Avec une indexation virale préalable, elle offre les meilleures garanties sanitaires. Cette application simple des biotechnologies constitue un outil indispensable à l'assainissement des cultures et permet de proposer les nouvelles variétés aux planteurs.

La culture d'embryons zygotiques, également d'application courante, est indispensable pour le programme d'amélioration. En effet, l'obtention d'hybrides par certains croisements comme ceux du schéma "3x x 2x" n'est possible qu'avec le sauvetage *in vitro* des embryons obtenus.

Des travaux sont menés pour maîtriser l'embryogenèse somatique et les suspensions cellulaires régénérantes sur les cultivars plantain (Auboiron et al, 1995) selon le protocole décrit par Cote et al. (1996) dans le but d'exploiter cette technique pour la multiplication *in vitro* et la conservation, en incluant les techniques de cryoconservation. Avec des suspensions cellulaires régénérantes des cultivars plantains, le CRBP disposera d'un matériel de choix pour initier des projets d'amélioration par transfert de gènes avec les laboratoires maîtrisant l'ensemble des aspects des transformations génétiques et disposant de gènes d'intérêt pour les plantains. Un cultivar diploïde fait également l'objet d'une mise au point ; les suspensions régénérantes devant, dans ce cas, être utilisées comme matériel de base dans le cadre du programme de création d'hybrides triploïdes : pour réaliser des

hybridations somatiques avec un haploïde de façon à créer directement un hybride triploïde (2x + 1x → 3x) ou pour créer le tétraploïde (2x + 2x → 4x) destiné à une dernière étape d'hybridation conventionnelle (4x x 2x→3x).

D'autres travaux visent à mettre au point la duplication chromosomique par un traitement *in vitro* à la colchicine pour doubler les diploïdes destinés à l'étape finale du schéma de création de triploïdes (4x x 2x → 3x).

Le développement des techniques de marquage biochimique et moléculaire est en cours de développement pour augmenter les possibilités du CRBP en terme de caractérisation, indispensable au programme d'amélioration.

SÉLECTION

Les variétés exploitées localement dans les différentes régions du champ d'action du CRBP représentent une très faible partie de la diversité existante. Il s'agit essentiellement de variétés du sous-groupe plantain pour les bananes de type "à cuire" et de quelques bananes "dessert". Or, l'ensemble de ces variétés est très sensible aux cercosporioses et également aux nématodes et aux charançons. Des variétés d'autres sous-groupes de bananes de type "à cuire" et de type "dessert" présentent des caractères de résistance ou de tolérance. Le CRBP a donc naturellement commencé par évaluer les variétés existantes présentant un potentiel. Celles-ci proviennent de la collection du CRBP qui compte près de 400 variétés, auxquelles s'ajoutent de nouvelles introductions obtenues auprès de l'INIBAP[2]. Quelques-unes des nouvelles variétés ont été sélectionnées en plus des quelques plantains les plus performants (tableau 1). L'évaluation intègre les qualités agronomiques des variétés mais également les caractéristiques des fruits produits, les utilisations possibles de ceux-ci et leur acceptabilité pour le consommateur. Ces études en cours permettront d'affiner progressivement la sélection.

Tableau 1 : Variétés proposées pour la diffusion de matériel végétal de plantation.

Cultivar			Intérêt agronomique (* Données indicatives obtenues au CRBP avec une fertilisation réduite 60g N/an et 60g K2O/an)			Utilisation identifiée des fruits x bon, (x) passable, o mauvais, - non évalué						
groupe	sous-groupe	cultivar	Poids régime (kg)	Durée de cycle (mois)	Comportement vis à vis de la cercosporiose noire	Fruit dessert cru	Chips	Frites (mûr)	Beignets	Fruits bouillis	Farines	Pulpe pilée
Bananes type "à cuire"												
AAB	Plantain Type French	French Clair	17	11	sensible	0	x	x	x	x	x	-
		French Sombre	17	11	sensible	0	x	x	x	x	x	-
		Amou	14	12	sensible	0	x	x	x	x	x	-
		Kelong Mekintu	14	11	sensible	0	x	x	x	x	x	-
		Njock kon	26	15	sensible	0	x	x	x	x	x	(x)
		Essong	14	12	sensible	0	x	x	x	x	x	-
	Plantain Type faux corne	Bâtard	10	11	sensible	0	x	x	x	x	x	-
		Mbouroukou N°1	10	11	sensible	0	x	x	x	x	x	-
		Big Ebanga	9	12	sensible	0	x	x	x	x	x	x
	Popoulou/Maya Maoli	Popoulou CMR	13	10	sensible	0	x	-	x	-	x	-
	Laknao	Laknao	17	10	sensible	0	-	x	x	x	x	-
ABB	Pelipita	Pelipita	25	13	tolérant	0	x	x	x	x	x	-
	Bluggoe	Poteau Nain	-	-	tolérant	0	-	-	x	-	-	-
		Bluggoe	-	-	tolérant	0	-	-	x	-	-	-
Bananes type "dessert"												
AAcv	Microcarpa der	Pisang Mas	6	10	résistant	x	-	-	x	-	-	-
AAA	Cavendish	Petite Naine	-	-	sensible	x	-	-	x	x	-	-
		Poyo	-	-	sensible	x	-	-	x	x	-	-
	Gros Michel	Gros Michel	-	-	sensible	x	-	-	x	x	-	-
	Ibota	Yangambi km5	18	12	résistant	x	-	-	x	-	-	-
AAB	Mysore	Pisang Ceylan	20	11	résistant	x	-	-	x	-	-	-
Hybrides												
AAAB	"à cuire"	IRFA 904	24	11	résistant	o	(x)	(x)	x	x	-	-
		FHIA 3	22	11	résistant	o	-	-	x	-	(x)	-
	"mixte"	FHIA 1	25	11	résistant	x	-	-	x	-	-	-
	"dessert"	FHIA 2	22	11	résistant	x	-	-	x	-	-	-

AMÉLIORATION VARIÉTALE AU CRBP

Le CRBP[1] a développé depuis 1992 un programme d'amélioration variétale suivant le schéma de création d'hybrides tétraploïdes (3x x 2x → 4x) (Chesman, 1932) (figure 1), avec pour objectif de créer des hybrides résistants à la cercosporiose noire, les plus proches possibles des plantains (Jenny et al., à paraître). L'originalité de ce programme réside dans la diversité des parents plantains hybridés (qui est possible grâce à la richesse de la collection du CRBP, qui couvre la quasi-totalité de la diversité du sous-groupe plantain) et dans la particularité des parents mâles diploïdes *acuminata* résistants utilisés. En effet, le CRBP utilise le parent diploïde *Musa acuminata burmanicoïdes* type Calcutta 4, classique de ce type de programme (Bakry & Horry 1992, Swennen R. & Vuylsteke 1993), mais aussi un hybride, le M53 et plusieurs variétés de la sous-espèce Banksii. Le M53 ayant une hétérozygotie importante (≈ 43%), une autofécondation a été réalisée pour sélectionner les meilleurs individus de première génération comme géniteurs mâles.

Figure 1. Schéma de création d'hybrides tétraploïdes.

Bananier AAB Plantain — Fertile

X

Diploïde *acuminata* — Fertile — Résistant à la cercosporiose noire

↓

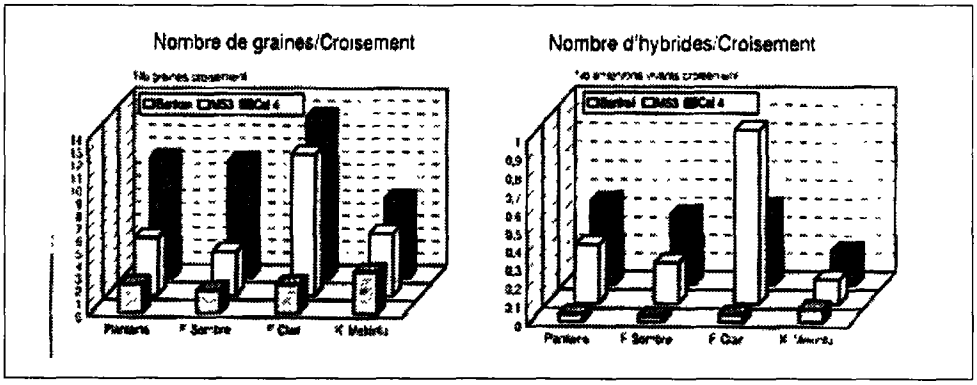
Sauvetage des embryons *in vitro*

↓

Sélection des hybrides
- Tétraploïdes AAAB
- Résistants à la cercosporiose noire
- Fruits de type plantain

La fertilité femelle s'est exprimée sur 46 des 63 variétés de plantain de type French hybridées. Si les hybridations réalisées avec Calcutta 4 s'avèrent globalement plus fécondes que celles réalisées avec M 53, en terme de nombre d'hybrides produits, ce résultat est inverse pour le parent femelle plantain, French clair (figure 2). Le couple French Clair / M 53 est également le plus performant pour la production d'hybrides tétraploïdes. Les hybridations réalisées avec les variétés de la sous-espèce Banksii produisent très peu d'hybrides (figure 2).

Figure 2. Performances des principaux croisements.



Quatre cent hybrides ont été créés depuis 1992. Parmi les 150 premiers, 42 sont tétraploïdes. Quatorze d'entre eux ont été retenus pour leur résistance à la cercosporiose noire, leurs qualités agronomiques et organoleptiques (tableau 2). Ils sont en cours d'évaluation multilocale (dernière étape de sélection). Les meilleurs rejoindront prochainement les variétés sélectionnées pour la diffusion auprès des planteurs. Les résistances ou tolérances aux nématodes et au charançon sont maintenant intégrées dans les critères d'amélioration de ce programme.

Cependant, les possibilités de ce schéma sont limitées et les hybrides tétraploïdes présentent systématiquement quelques défauts comme une fertilité femelle non nulle qui peut induire la formation de graines dans les fruits. Or, il existe maintenant une alternative avec les nouveaux schémas de création d'hybrides triploïdes (Bakry et al., 1990), potentiellement beaucoup plus performants. Un programme de création d'hybrides triploïdes (figure 3) a donc été initié au CRBP pour répondre à un objectif à plus long terme. Cette voie d'amélioration a été rendue possible grâce à des études de fond sur la génétique des bananiers. Celles-ci ont largement utilisé les outils de marquage biochimique (Horry & Jay, 1988) moléculaire (Fauré et al, 1994 ; Carreel, 1994) qui permettent actuellement d'orienter le choix des parents diploïdes à améliorer en vue de créer des hybrides triploïdes. L'étape finale de ces hybridations conventionnelles implique le doublement chromosomique d'un des parents, qui est en cours de mise au point au CRBP. Les biotechnologies auront encore un rôle très important dans ce programme, notamment pour s'affranchir des barrières de stérilité ou d'incompatibilité.

Figure 3. Schéma de création d'hybrides triploïdes.

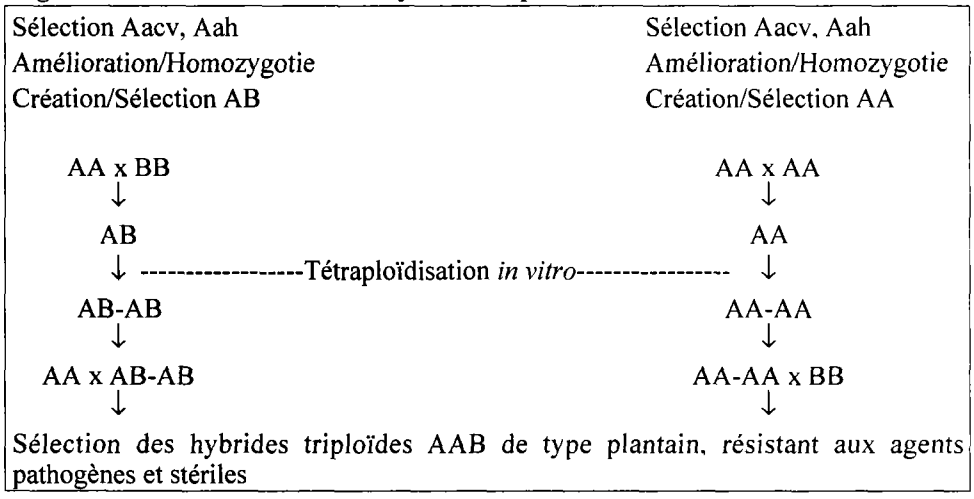


Tableau 2 : Hybrides tétraploïdes du CRBP préselectionnés (évaluation préliminaire sur un pied).

Cultivar	Parents			Intérêt agronomique				Utilisation identifiée des fruits x : bon ; (x) : passable ; o . mauvais ; - : non évalué						
				Poids régime cycle 1 (kg)	Durée de cycle (mois)	Poids régime cycle 2 (kg)	Comportement vis à vis de la cercosporiose noire	Fruit dessert cru	Chips	Frites (mûr)	Beignets	Fruits bouillis	Farines	Pulpe pilée
Hybrides AAAB type "à cuire"														
CRBP 001	Mbaf	x	Calcutta 4	23	13	22	résistant	o	x	x	x	x	-	-
CRBP 014	Amoung	x	Calcutta 4	12	12	14	résistant	o	-	-	x	x	-	-
CRBP 015	Amoung	x	Calcutta 4	14	14	20	résistant	o	x	x	x	x	-	-
CRBP 036	French Clair	x	M 53	12	12	12	résistant	o	-	-	x	x	-	-
CRBP 038	French Clair	x	M 53	16	12	13	résistant	o	-	-	x	-	-	-
CRBP 039	French Clair	x	M 53	19	11	18	résistant	o	x	x	x	x	-	-
CRBP 065	French Rouge 3	x	M 53	-	-	24	résistant	o	-	-	x	x	-	-
CRBP 069	French Sombre	x	M53	12	12	16	résistant	o	-	-	x	-	-	-
CRBP 085	French Sombre	x	M53	19	12	21	résistant	o	(x)	-	x	x	-	-
CRBP 100	French Clair	x	M 53	16	11	16*	résistant	o	-	-	x	x	-	-
CRBP 101	French Sombre	x	Calcutta 4	11	11	18	résistant	o	-	-	x	-	-	-
CRBP 102	French Sombre	x	Calcutta 4	11	11	22	résistant	o	-	-	x	-	-	-
CRBP 105	French Sombre	x	Calcutta 4	10	10	22	résistant	o	-	-	x	-	-	-
CRBP 120	French Clair	x	M 53	13	10	15	résistant	o	-	-	x	-	-	-
				* plant couché par le vent avant maturité										
French Clair	Plantain French moyen traité contre la cercosporiose noire			20	10	19	sensible	o	x	x	x	x	x	-

EXPLOITATION DE CE MATÉRIEL VÉGÉTAL POUR LE DÉVELOPPEMENT DES CULTURES LOCALES

Au Cameroun, la Province du Sud-Ouest constitue la plus importante zone de production (30 % de la production nationale). Elle alimente 70 % des approvisionnements des marchés de la ville de Douala. La Province du Centre alimente la ville de Yaoundé qui constitue le deuxième plus grand marché de plantain du Cameroun. Aussi, les premiers efforts ont-ils été réalisés dans ces provinces avec l'implantation de parcelles de multiplication et de démonstration à Ekona (Centre IRAD[3]) et à Kumba (PSCC[4]), à Yaoundé (GAPYSEM[5]) et à Njombé (CRBP) (figure 4). L'ensemble des parcelles compte 8 000 vitroplants qui devraient permettre de diffuser 32 000 à 64 000 rejets la première année. La demande actuelle en rejets concerne essentiellement des variétés de plantain, mais de nouvelles variétés sont proposées dont certaines sont résistantes à la cercosporiose noire.

Au niveau régional, des collaborations ont été établies avec la Guinée (PGM2[6]), le Tchad (ONDR[7]), la Guinée Équatoriale (PRSCC[8]), le Congo (Agricongo) et le Gabon (CENAREST[9], IGAD[10] et Agrogabon) (figure 4). L'ensemble des envois effectués regroupe 4 500 vitroplants multipliés à partir de matériel végétal *in vitro* provenant de l'INIBAP (état sanitaire du matériel végétal contrôlé). En effet, le CRBP1 est mandaté pour assurer cette multiplication *in vitro* pour les pays d'Afrique de l'Ouest et Centrale par l'INIBAP qui est en charge des mouvements de germoplasme de bananiers et plantains au niveau international. Le potentiel global de production de rejets de ces parcelles devrait être de 18 000 à 36 000 rejets la première année. La diversité variétale proposée devrait permettre de découvrir dans chaque zone de production, de nouveaux cultivars plus performants.

Figure 4a. Diffusion de matériel végétal dans le Centre et l'Ouest de l'Afrique.

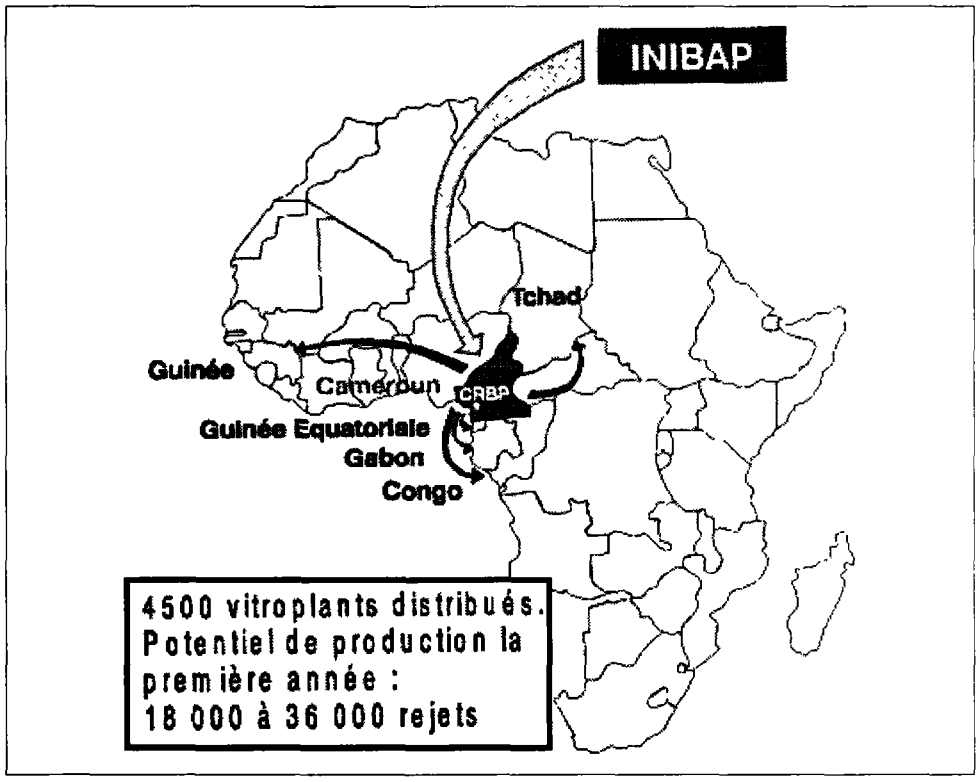
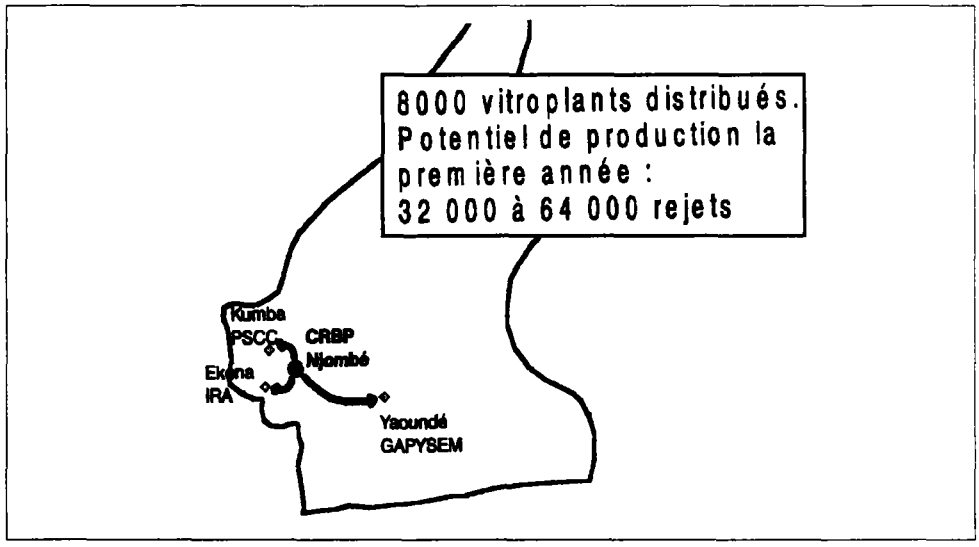


Figure 4b. Diffusion de matériel végétal au Cameroun.



CONCLUSION-PERSPECTIVES

Les planteurs disposent, dans les zones de production, de matériel végétal sain et de qualité. Ce matériel est distribué sous une forme qu'ils connaissent bien, le rejet. Ils pourront choisir eux-mêmes les nouveaux cultivars qui les intéressent en les jugeant dans leurs zones de production. Les organismes de développement associés disposent des moyens techniques (multiplication rapide *in vivo*) pour acquérir une autonomie de production de rejets et ainsi générer une activité qui réponde directement aux demandes des planteurs tout en s'autofinançant.

Les outils simples de biotechnologie que sont la micropropagation et le sauvetage d'embryon ont permis d'importantes réalisations. L'exploitation plus large du potentiel des biotechnologies pourra encore augmenter l'impact de ces travaux en amplifiant considérablement les possibilités de l'amélioration variétale, mais aussi de la conservation et de l'utilisation des ressources génétiques.

De nouveau hybrides tétraploïdes plus performants, dont ceux du CRBP, seront bientôt disponibles en attendant les produits des programmes de création d'hybrides triploïdes.

L'impact de ces travaux au niveau des plantations est représenté par les quantités de rejets mis à la disposition des planteurs et les nouvelles variétés introduites dans les zones de production. Cependant, il est trop tôt pour vérifier l'adoption réelle de ces nouvelles variétés par les planteurs et l'augmentation de production inhérente à cette diffusion de matériel végétal. Les enquêtes agro-économiques réalisées par le CRBP devraient permettre d'évaluer cette augmentation quand celle-ci sera effective. D'autre part, de nouvelles collaborations devront être établies pour satisfaire au maximum les besoins de l'ensemble des pays l'Ouest et du Centre de l'Afrique. Dans cette perspective, une convention de collaboration a été passée avec la République Centrafricaine (ICRA[11]) et avec le Congo (DGRST[12]).

[1] CRBP : Centre de Recherches Régionales sur Bananiers et Plantains.
[2] INIBAP : International Network for Improvement of Bananas and Plantains.
[3] IRAD : Institut de Recherches Agricoles pour le Développement.
[4] PSCC : Projet Semencier Café Cacao.
[5] GAPYSEM : Groupement Agropastoral de Yaoundé - Semences.
[6] PGM2 : Projet Guinée Maritime 2.
[7] ONDR : Office National de Développement Rural.
[8] PRSCC : Projet de Relance du Secteur Café Cacao, maintenant station de DUMASI.
[9] CENAREST : Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique.
[10] IGAD : Institut Gabonais d'Appui au Développement.
[11] ICRA : Institut Centrafricain de Recherche Agronomique.
[12] DGRST : Délégation Générale de la Recherche Scientifique et Technique.

Bibliographie

1. AUBOIRON E., GRAPIN A., COTE F.X., TEISSON C. (1995), Application de l'embryogenèse somatique à la gestion et à l'utilisation des ressources génétiques sur bananier. AUPELF-UREF - Réseau génie génétique des plantes. 5e journées Scientifiques : Biotechnologies et ressources génétiques. Dakar, Sénégal, 13-15 décembre 1995.
2. BAKRY F., HORRY J.-P. (1992), Tetraploid hybrids from interploid 3x/2x crosses in cooking bananas. Fruits d'Outre-mer. 47(6):641-655.
3. CARREEL F., LAGODA P.J.L., NOYER J.-L., GONZALES DE LEON D., PERRIER X., TEZENAS DU MONCEL H., HORRY J.-P. (1994), Evaluation of the banana (*Musa* spp.) Genetic diversity with RFLP ; Chloroplastic and mitochondrial polymorphisms. Poster présenté à EUCARPIA Genetic ressources section : evaluation and exploitation of genetic ressources pre-breeding, Clermont-Ferrand, France, 15-18 mars 1994.
4. CHEESMAN E.E. (1932), Genetic and cytological studies of *Musa*. I Certain hybrids of the Gros Michel Banana. Journal of Genetics. 26(3):231-312.
5. COTE F.-X., DOMERGUE R., MONNMARSON S., SCHWENDIMAN J., TEISSON C., ESCALANT J.V (1996). Embryogenic cell suspensions from the male flower of Musa AAA cv. Grand nain Physiologia plantarum. 97:285-290.
6. FAURÉ S., BAKRY F., GONZALES DE LEON D. (1994). Genetic mapping of the diploid genome of the bananas (*M. Acuminata*). Dans Breeding banana and plantain for resistance to diseases and pests, Montpellier, France, 7-9 septembre 1992, CIRAD et INIBAP.p 77-92.
7. HORRY J.-P., JAY M. (1988), Distribution of anthocyanins in wild and cultivated banana varieties Phytochemistry. 27:2667-2672.
8. JENNY CH., AUBOIRON E., BEVERRAGI A. Adaptating hybridization strategy to produce plantain type hybrids at CRBP. Fruit d'Outre-Mer (à paraître).
9. SWENNEN D., VUYLSTEKE D. (1993), Breeding black sigatoka resistant plantains with wild banana Tropical Agriculture. 70:74-77.

A6 : Amélioration des plantes à tubercules au Cameroun : cas du macabo

TSALA NDZOMO G., OMOKOLO NDOUMOU D.
Département des Sciences Biologiques
Laboratoire Associé Francophone (LAF 314)
École Normale Supérieure, Université de Yaoundé I
B.P. 47 Yaoundé (Cameroun) ; tél./fax : (237) 22.86.74/e.mail : tsala@syfed.cm.refer.org

INTRODUCTION

Au Cameroun, la sécurité alimentaire (ou l'autosuffisance alimentaire) fait l'objet d'un souci particulier qui se manifeste dans les programmes des Ministères en charge de l'Agriculture et de la Recherche Scientifique. En effet, les programmes « céréales », « tubercules et racines amylacées », « banane et plantain », « fruits tropicaux », « palmier à huile » et « production des semences » concourent tous à l'autosuffisance alimentaire.

Ainsi, selon la volonté politique affichée à travers ces différents programmes, chaque Camerounais doit pouvoir manger à sa faim. Pour cela, le Cameroun doit produire en quantité suffisante et à moindre coût tout ce que consomment traditionnellement ses habitants. Cette option prend toute une autre dimension face à la crise économique qui secoue le Cameroun depuis quelques années, crise à laquelle la dévaluation du franc CFA est venue s'ajouter.

PLACE DU MACABO DANS LA PRODUCTION VIVRIÈRE

Dans la production vivrière au Cameroun, le macabo occupe la troisième place après le manioc et le plantain. C'est la deuxième plante vivrière à tubercules consommée au Cameroun, avec une production moyenne de 82 264 mille tonnes pour une superficie cultivée de 10 336 ha environ (1984-1985/1989-1990).

L'amélioration du macabo est une nécessité pour les raisons suivantes :

- C'est une plante indigène à tubercules très consommée (tubercules et feuilles) ;
- Cette plante ne figure pas dans le programme national de recherche sur les plantes à tubercules et amylacées ;
- Sa bonne valeur nutritive pour l'alimentation humaine (glucides et sels minéraux) ;
- Sa contribution à la politique d'autosuffisance alimentaire et l'environnement économique actuel au Cameroun.

La culture du macabo au Cameroun rencontre quelques problèmes. À cause de ces problèmes, sa culture ne se développe que très peu. En effet, cette plante fait l'objet d'une attaque par un parasite (champignon) qui est endémique dans le sol. Ce parasite s'attaque aux racines qui, une fois infectées, finissent par pourrir, entraînant ainsi la mort de la plante.

Par ailleurs, les techniques culturales traditionnelles ne permettent pas la pratique d'une culture extensive du macabo. Lorsqu'on plante une bouture, on récolte les

tubercules et, pour la saison suivante, on ne dispose que de la même bouture comme semence pour planter. Le développement de la culture du macabo se heurte donc en plus au problème de la production des semences.

C'est donc dans ce contexte que le projet conduit par le Laboratoire Associé Francophone 314, mène la recherche sur l'amélioration du macabo.

Tableau : nombre et biomasse des tubercules par pied des différentes catégories de plantes . CIV : plantes issues des vitroplants : BT: boutures traditionnelles.

	CV blanc		CV rouge		CV jaune	
	CIV	BT	CIV	BT	CIV	BT
Nombre de tubercules/Pied	12,8 ± 2,4	7,5 ± 1,6	10,2 ± 2	5 ± 1.1	0	0
Biomasse des tubercules/Pied (kg)	2,2 ± 0,6	1,7 ± 0.2	2 ± 0,4	1.1 ± 0,2	0	0
% pieds formant des rejets	86	13	74	10	100	64
Nombre de rejets par pied	5 ± 2	1 ± 0	4 + 1	1 ± 0	6 ± 2	3 + 1

Notre programme de travail comporte deux volets principaux :

- Produire en grande quantité des plants sains.
- Transférer les caractères de résistances de la variété jaune aux variété rouges et blanches.

APPROCHE ET RÉSULTATS

Notre approche s'explique par le fait que, jusqu'à ce jour, le programme de sélection par les méthodes de génétique classique n'a pas donné de résultats concluants et, l'utilisation des fongicides pour lutter contre le pathogène est inefficace du fait de son caractère endémique dans le sol.

Pour ce travail, nous disposons naturellement de trois cultivars de macabo au Cameroun :

- Le cultivar blanc : très productif et sensible au parasite.
- Le cultivar rouge : productif et sensible au parasite.
- Le cultivar jaune : improductif et insensible au parasite.

Mise au point de milieux pour la régénération « in vitro » des plantes de macabo

Acclimatation et essais en champs.

Multiplication végétative

Production de semences, création de clones.

Étude de la fleur

Le macabo fleurit rarement naturellement. Il faut induire la floraison par traitement à la gibbérelline. Au terme de ce traitement on obtient des fleurs qui se forment à l'aisselle des pétioles.

Cette étude comprend donc :

• L'induction de la fleur.

• L'identification des différents stades de développement des anthères en vue d'obtenir des plantes haploïdes par la culture d'anthères.

• L'obtention des protoplastes à partir des plantes haploïdes et :
  - coculture des protoplastes avec le pathogène dont la virulence a été atténuée (UV) ;
  - sélection d'individus résistants ;
  - régénération des plantes ;
  - fusion des protoplastes (cv jaune X cv blanc ; cv. Jaune X cv. rouge).

Étude du pathogène

• *Identification du pathogène*

L'agent pathogène a été isolé à partir des échantillons de sol prélevés dans la rizosphère des plantes de macabo. Plusieurs champignons ont été isolés mais, seul *Pythium myriotylum* est responsable de la pourriture racinaire chez cette plante.

• *Recherche de marqueurs de résistance c/o le macabo (études des protéines des parois en collaboration avec l'Université de ROUEN).*

Les tests de sensibilité au pathogène ont montré que le cv. Jaune est résistant tandis que les cv. blanc et rouge sont sensibles.

Ce constat nous a emmené à faire une étude sur les interactions biochimiques entre le macabo et *Pythium myriotylum*. Nous nous sommes intéressés aux péroxydases qui constituent un groupe important d'enzymes des parois. La paroi est en effet le premier point de contact entre les deux organismes, et les péroxydases sont connues pour leur implication dans les infections végétales.

Les premiers résultats montrent des différences constitutives dans les profils isopéroxydasiques acides des trois cultivars (objet du poster N°???).

CONCLUSION

• Nous avons mis au point une méthode de production (multiplication) *in vitro* de semences de macabo.

• Le rendement en champs de ces semences indemnes du pathogène est d'environ 80 % supérieur à celui des semences traditionnelles.

• Les plantes issues des vitroplants sont infectées assez tardivement.

• Le nombre de rejets par plante issue des vitroplants est d'environ cinq fois plus élevé.

• Le programme de recherche sur le transfert des caractères de résistance du cv. Jaune aux cv. blanc et rouge se poursuit à travers la production des plantes haploïdes, la fusion des protoplastes et la recherche des protéines responsables de la résistance vis-à-vis de *Pythium myriotylum*.

Bibliographie

1. TONG XU et al. (1994), Journal of Zhejiang, Agricultural University 20(3):221-227.
2. TONG XU et al., (1995), Acta Mycologica Sinica 14 (1) 37-43.
3. OMOKOLO N.D. et al. (1995), C.R.Acad.Sci. Paris, Sciences de la Vie 318:773-778.
4. TSALA G.N. et al. (1996), Plant Peroxydase Newsletter N°8 17-24.
5. OMOKOLO D. et al. (1996), Annals of Botany 77:153-158.

A7 : Les apports récents des biotechnologies pour l'amélioration des caféiers et la valorisation des ressources génétiques

HAMON S.[1], ANTHONY F.[2], BARRE Ph.[1], BERTHAUD J.[1], BOURSOT M.[3], CHABRILLANGE N.[1], CHARRIER A.[4], CHIN-LONG K.[1], COMBES M.C.[1], COUTURON E.[5], CROS J.[1], DUSSERT S.[1], ENGELMANN F.[6], LASHERMES Ph.[1], LE PIERRÈS D.[7], LOUARN J.[3], NOIROT M.[1], RÉCALT C.[1], TROUSLOT P[1].

[1] - ORSTOM, BP 5045 - Montpellier, France ; [2] - CATIE, Aparto 59, 71170 - Turrialba, Costa Rica ; [3] - ORSTOM, BP 434 - Man, Côte d'Ivoire ; [4] - ENSAM, Place Viala, F - 34060 - Montpellier, France ; [5] - ORSTOM, BP 11416 - Niamey, Niger ; [6] - IPGRI - Via delle Sette Chiese 142, I-00145 - Rome, Italie ; [7] - ORSTOM - Nouméa, Nouvelle-Calédonie

INTRODUCTION

Des collectes de caféiers spontanés ont été réalisées de 1966 à 1987 dans les forêts d'une dizaine de pays africains couvrant la zone intertropicale, de la Guinée-Conakry à Madagascar. Près de 15 000 génotypes originaux sont conservés en champ dans les collections de base des stations de recherche agronomique.

La diversité spécifique des caféiers connus, est de l'ordre de 80 espèces, réparties en deux sous-genres *Coffea* et *Psilanthus*. Elles sont diploïdes (2n = 22 chromosomes), généralement allogames, à l'exception de *C. arabica*, espèce tétraploïde (2n = 44 chromosomes) et autogame préférentielle (Berthaud et Charrier, 1988). L'étude de leur diversité aux niveaux intra et interspécifique est largement documentée, pour des caractéristiques très variées comme les caractères botaniques (Charrier 1978, Berthaud 1986, Anthony 1993) ; les caractères d'intérêt agronomique (Berthaud et al. 1984, Anthony et Le Pièrres 1987) ; la diversité révélée par les marqueurs enzymatiques (Berthou et al 1980, Berthaud 1986, Anthony 1993) et les relations génétiques en croisement (Charrier 1978, Louarn 1993, Le Pièrres 1995).

L'objet de cet article est de situer les uns par rapport aux autres, les apports récents des biotechnologies aussi bien dans la structuration de la variabilité du complexe d'espèces des caféiers par les marqueurs moléculaires que pour la conservation des ressources génétiques à long terme grâce aux possibilités apportées par la culture *in vitro*.

ORGANISATION ET STRUCTURATION GÉNÉTIQUE DU COMPLEXE DES CAFÉIERS

La variation de l'ADN cp chez les espèces diploïdes

La variation de l'ADN chloroplastique (cp) des caféiers a été évaluée par 2 approches complémentaires (Cros, 1994) : i) le polymorphisme de site ou de longueur des fragments de restriction du génome ADNcp; ii) la divergence d'une séquence chloroplastique non codante trnL-trnF.

Pour l'approche RFLP, l'ADN total des caféiers a été digéré séparément par 3 enzymes puis hybridé avec 15 sondes hétérologues couvrant 95 % du génome ADNcp de la laitue. La majorité des couples enzymes/sondes ne révèlent pas de polymorphisme : sur 112 sites, 8 seulement sont polymorphes (moins de 1 %), et ils se situent tous dans la grande région simple copie. Pour l'ensemble des 27 espèces, 11 chlorotypes sont distingués.

Les régions intergéniques, supposées plus variables que les parties codantes, ont été étudiées pour augmenter le nombre de caractères en vue de l'analyse phylogénétique.

Les 2 zones concernées sont situées dans la grande région simple copie :

- L'intergène atpB-rbcL (sous-unité B de l'ATP synthétase et rubisco de taille supérieure à 900 paires de bases (pb) ; la recherche de polymorphisme par RFLP a mis en évidence 4 mutations.
- Les régions non codantes adjacentes aux gènes codant pour les ARN de transfert de la leucine (L) de la thréonine et de la phénylalanine (T et F) ; l'amplification par PCR a montré un maximum de polymorphisme sur trnL-trnF ; ce fragment a donc été séquencé pour 40 génotypes ; la séquence (sur 377 pb) est très conservée avec des sites de mutation ponctuelle et la localisation de 5 « indels » (insertion/délétion) (Cros et al. 1998).

L'ensemble des caractères polymorphes entre les génotypes de caféiers et Psilanthus - 8 sites, 32 caractères - représente peu de mutations par rapport au nombre de sites étudiés (513). Seule l'analyse cladistique permet l'analyse conjointe des caractères polymorphes de nature différente. Elle a été fondée sur le principe de parcimonie selon Wagner qui minimise le nombre de mutations sur les branches de l'arbre phylogénétique.

Au moins 6 clades sont mis en évidence entre les espèces du sous-genre Coffea :

A *C. canephora, C. congensis, C. brevipes.*

B *C. liberica, C. kapakata.*

C *C humilis, C. stenophylla.*

D *C. arabica, C. eugenioides, C. sp. Moloundou.*

E *C. bertrandi, C. humblotiana, C. millotii.*

F *C. racemosa, C. salvatrix, C. pseudozanguebariae, C. sessiliflora.*

Les deux taxons de Psilanthus bien que très proches des caféiers du sous-genre Coffea ne partagent avec eux aucune synapomorphie. *P. ebracteolatus* qui ne possède aucune mutation propre, semble le plus proche des espèces du sous-genre Coffea.

L'hérédité de l'ADNcp a été observée à l'aide de marqueurs moléculaires utilisant la PCR chez un croisement inter-spécifique entre *C. arabica* et *C. canephora*, et dans le cas d'un croisement intra-spécifique de *C. canephora*. Les deux études indiquent une hérédité strictement maternelle de l'ADNcp (Lashermes et al. 1996a).

La variation de taille du génome des caféiers diploïdes

La cytométrie en flux (CMF) permet de déterminer aisément la teneur en ADN nucléaire lorsque celui-ci est coloré par des fluorochoromes. Cette nouvelle technique, développée par Cros et al. (1995) a permis d'estimer la quantité d'ADN chez les caféiers. Pour 77 génotypes, des populations de noyaux isolés ont été colorées par l'iodure de propidium (IP ; non spécifique des bases). Pour trente neuf génotypes, le 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI ; AT spécifique) a été également utilisé. Les

mesures ont porté sur 12 espèces diploïdes et sur l'espèce *C. arabica*, en utilisant des échantillons de feuilles de caféiers cultivés en serre.

L'espèce tétraploïde *C. arabica* présente la plus forte quantité d'ADN, 2,61 pg par noyau, soit environ le double des caféiers diploïdes. Elle varie chez ces derniers de 0,95 pg pour *C. racemosa* à 1,78 pg pour *C. humilis*. La variation de la taille du génome des espèces diploïdes est continue, avec 3 groupes statistiquement différents :

- Groupe 1 : 0,90 à 1,30 pg.
  C. sessiliflora, C. racemosa, C. pseudozanguebariae.
- Groupe 2 : 1,30 à 1,60 pg.
  C. congensis, C. brevipes, C. canephora, C. eugenioides, C. stenophylla, C. sp F.
- Groupe 3 : 1,60 à 1,80 pg.
  C. humilis.

Les différences observées peuvent s'interpréter en fonction de l'origine éco-géographique des espèces, de leurs caractéristiques phénologiques et de la fertilité de leurs hybrides interspécifiques. Pour ce dernier point, si on compare la taille du génome des espèces parentales avec la fertilité des hybrides interspécifiques (Louarn 1993), on constate que les symptômes de stérilité deviennent très importants dès que la différence de quantité d'ADN des espèces parentales dépasse 0,3 pg.

La cytométrie en flux est une technique d'emploi courant pour la détermination des niveaux de ploïdie. Il est toutefois possible d'obtenir des mesures très précises si certaines procédures sont optimisées. Barre et al. (1996) ont montré que la cytométrie en flux permet d'obtenir des mesures précises de la taille des génomes de deux taxons (*C. liberica dewevrei* et *C. pseudozanguebariae*). L'iodure de propidium (IP) et le *Petunia hybrida* ont été utilisés, respectivement, comme fluorochrome et standard interne. La linéarité de la relation entre la quantité d'ADN et le signal fluorescent digitalisé a été vérifiée et des conditions expérimentales optimales ont été définies pour l'estimation de la position des pics (moyenne et mode), le temps de coloration (au moins deux minutes), le voltage du photomultiplicateur (557 V) et de la concentration en IP (330 µg/ml). Les tailles de génome de *C. liberica dewevrei* et de *C. pseudozanguebariae* ont été estimées avec précision (respectivement 2C=1,421 ± 0,005 pg et 2C=1,129 ± 0,005 pg).

Barre et al (1998a) ont réalisé une étude simultanée par cytofluorométrie et hybridation chromosomique *in situ* sur des descendants interspécifiques (*C. liberica dewevrei* x *C. pseudozanguebariae*). La méthode d'hybridation *in situ* est efficace sur les caféiers et les différences génomiques sont suffisantes pour que les chromosomes des deux espèces se distinguent parfaitement au niveau des hybrides F1. Toutes les plantes hybrides F2 analysées ont 22 chromosomes mais sont constituées de contributions parentales différentes. Une relation linéaire a été établie entre le nombre de chromosomes de *C. pseudozanguebariae* présent chez l'hybride et la valeur de la quantité d'ADN correspondante des noyaux extraits. Cette relation entraîne 2 conclusions majeures, d'une part la différence de quantité d'ADN entre les 2 espèces est portée par plusieurs chromosomes et d'autre part la CMF, technique simple et rapide, donne une estimation de la composition parentale des hybrides G2. Cette approche peut permettre, dans un programme d'introgression de caractères provenant d'espèces sauvages, de cribler rapidement les plantes ayant peu de chromosomes de l'espèce non cultivée.

La variabilité biochimique des espèces diploïdes

Les premières analyses sur la diversité biochimique des espèces ont été réalisées sur des espèces malgaches (Rakotomalala et al. 1992). Une étude extensive menée sur 25 espèces, 9 pour la région guinéo-congolaise, 9 pour l'Afrique de l'Est et 7 pour Madagascar a été réalisée pour la composition en acides chlorogéniques, la caféine et les mozambiosides des grains par dosage HPLC (Anthony et al. 1993). Les analyses multivariées qui ont été réalisées ont mis en évidence deux grandes voies métaboliques différentes. L'une conduit à de très faibles quantités d'acides chlorogéniques (< 2,5 % de matière sèche) et de caféine (< 0,3 % de matière sèche). L'autre conduit à de fortes concentrations d'acides chlorogéniques (> 4,5 de matière sèche) et de caféine (> 0,4 % de matière sèche). La voie métabolique des faibles teneurs se trouve chez les espèces de Madagascar et chez les espèces d'Afrique de l'Est (*C. pseudozanguebariae* et *C. salvatrix)* tandis que la voie des fortes teneurs est présente chez toutes les autres espèces africaines. La mise en évidence de caféine chez quelques taxons malgaches (Clifford et al. 1991) pourrait signifier que les échanges ont eu lieu entre le continent africain et Madagascar au cours de l'évolution.

La détermination des teneurs en acides chlorogéniques est effectuée par HPLC après de nombreuses séries d'extraction. La possibilité d'analyse au sein de grandes populations de grains de café verts nécessite une méthode de purification précise, rapide et non-biaisée. Ky et al. (1997) ont testé cinq protocoles différents de purification. Le premier consistait à utiliser successivement différents solvants organiques, le second était basée sur la filtration au travers d'une cartouche, le troisième utilisait l'action combinée de deux réactifs, et les deux derniers étaient des simplifications du troisième protocole. La méthodes de purification la plus simple s'est révélée être la plus rapide, la plus précise et la moins biaisée. Par conséquent, cette méthode pourrait être utilisée en routine afin de quantifier les acides chlorogéniques dans les grains verts de café et l'accession à des études de grandes descendances contrastées, ce qui pour le moment n'a jamais pu se faire chez les caféiers, ouvrant ainsi la voie au positionnement génétique de ces caractères.

Origine et variabilité de *Coffea arabica*

Le principal centre de diversité de C. arabica se situe au Sud-Ouest de l'Éthiopie. Des caféiers « spontanés » de cette espèce ont également été trouvés sur le plateau de Boma au Soudan et sur le mont Marsabit au Kenya (Berthaud et al., 1980).

L'analyse du polymorphisme par « RFLP » du génome nucléaire de *C. arabica* montre : i) l'absence de locus présentant plus de deux allèles ; ii) une distance génétique plus élevée que si *C. arabica* était un autotétraploïde ; iii) les espèces diploïdes les plus proches de *C. arabica* sont *C. congensis*, *C. eugenioides*, et *C. canephora* (Lashermes et al., 1996b)

L'analyse de la séquence de l'espaceur intergénique ITS2 de l'ADN ribosomique permet de conforter la nature des progéniteurs de *C. arabica* : pour la voie maternelle *C. eugenioides* ou *C sp.* Moloundou ; pour la voie paternelle nucléaire *C. congensis* ou *C. canephora* (Lashermes et al. 1997).

L'ensemble de ces résultats converge vers une origine amphidiploïde de *C. arabica*. Une restauration de la fertilité et l'adaptation à une niche écologique spécifique auraient été obtenues à la suite du changement de niveau ploïdie, accompagnant le croisement des 2 espèces diploïdes. La formation de diplogamètes a été observée chez des hybrides interspécifiques et serait favorisée par des basses températures chez les caféiers. L'autofertilité de *C. arabica* aurait été une condition indispensable à son

maintien et à la colonisation d'une aire marginale. Le caractère autogame pourrait provenir d'un des deux parents ou résulter du contexte génétique hybride.

Le mode de formation de *C. arabica* est sans aucun doute responsable pour une large part de la faible diversité génétique observée à l'intérieur de cette espèce par des marqueurs moléculaires de type isozymes (Berthou et al. 1980) ou RAPD (Lashermes et al. 1996c). De plus, l'histoire récente de la caféiculture et le mode de dispersion des caféiers cultivés font que les variétés de *C.arabica* cultivées à travers le monde proviennent d'un nombre réduit de génotypes. La base génétique étroite des cultivars rend difficile l'amélioration variétale de cette espèce, pour la résistance aux maladies en particulier.

Des marqueurs « RAPD » ont été utilisés avec succès pour analyser la diversité génétique parmi des accessions sauvages et cultivées de *C. arabica* (Lashermes et al. 1996b). La base génétique étroite des cultivars est confirmée. En revanche, une large diversité est observée dans le matériel sauvage, illustrant l'intérêt des prospections. Des résultats suggèrent une différenciation génétique Est-Ouest en Éthiopie qui constitue le centre primaire de diversification de *C. arabica*. L'important effet d'hétérosis, observé chez des hybrides intergroupes, pourrait être lié à cette différenciation génétique. La méthode RAPD apparaît performante pour l'étude de la variabilité génétique et la classification du germoplasme de *C. arabica*.

CARTOGRAPHIE ET MARQUEURS MOLÉCULAIRES

Cartographie génétique

Une carte de liaison génétique du caféier (*C. canephora*) totalisant 1402 cM a été établie sur la base d'une population de plantes haploïde-doublées (Lashermes et al. 1994a). Des marqueurs « RFLP » comme des marqueurs utilisant la PCR (RAPD) ont permis la construction de 15 groupes de liaison. Des clones d'ADN génomiques de caféier ainsi que des ADNc ont été utilisés. Au total, 47 marqueurs RFLP et 100 marqueurs RAPD sont positionnés sur la carte de liaison. Un niveau relativement faible de polymorphisme est observé. Quatre-vingts un pour cent des marqueurs RAPD et 85 % des marqueurs RFLP présentent une ségrégation significativement non différente ($P < 0,01$) du ratio 1:1 (Paillard et al. 1996).

Localisation chromosomique de caractères d'intérêt agronomique

La disponibilité d'une carte de liaison moléculaire du caféier offre de nombreuses perspectives tant pour des études génétiques que pour l'amélioration des espèces de caféier.

La distribution du comportement en croisement observée au sein des génotypes confirme que l'auto-incompatibilité chez *C. canephora* est un système gamétophytique contrôlé par 1 locus (S). La faible production de graine dans des cas de croisements incompatibles pourrait indiquer l'existence de pseudo-incompatibilité. Une analyse de liaison par des marqueurs moléculaires indique que le locus S est associé à un marqueur RFLP sur le groupe de liaison 9 (Lashermes et al. 1996d). La disponibilité d'un marqueur associé devrait faciliter l'analyse génétique de l'auto-incompatibilité en relation avec les programmes d'amélioration génétique des caféiers.

Introgression de caractères originaux d'espèces non cultivées

La qualité du café est en rapport avec les nombreux composés biochimiques identifiés dans la graine. Le plus connu, la caféine, varie de 0 à plus de 3 % de la matière sèche. Chez les caféiers cultivés, elle varie du simple au double dans les lots de cafés Arabica

(0,6-1,7) et Robusta (1,2-3,3), et le café sans caféine est produit par traitement industriel. Les tentatives d'obtention de cafés sans caféine réalisées à Madagascar dans les années 70 (Charrier 1978) par croisement entre les deux espèces cultivées par des espèces sauvages produisant un café sans cet alcaloïde n'ont pas abouti.

Cette étude génétique a pu être relancée par la découverte d'un caféier spontané de Kenya/Tanzanie et dont les graines sont dépourvues de caféine (*C. pseudozanguebariae*) et la création d'hybrides 2x plus fertiles avec les caféiers cultivés *C.canephora* et *C.liberica* (Louarn 1993). Une étude génétique est développée sur la 2ème génération du croisement le plus avancé *C. pseudozanguebariae* X *C. liberica* (Barre et al., 1996). Elle porte sur plusieurs caractères d'intérêt technologique polymorphes chez ces 2 espèces. L'hérédité du poids des graines (et de leur taille) est très classiquement celle d'un caractère quantitatif à effet additif (Charrier et Berthaud, 1975). Dans le cas d'un croisement entre *C. liberica* par une espèce sauvage sans caféine, les hybrides F1, contiennent de la caféine mais en quantité inférieure à la moyenne des parents (0, 18 % MS vs 0,47). Cependant la racine carrée de la teneur en caféine est additive suggérant que ce caractère dépend du produit de 2 variables additives comme la surface des feuilles. L'analyse de 80 hybrides G2 a révélé l'existence de gènes majeurs pour le contrôle de la teneur en caféine et en hétéroside diterpène spécifique de *C. pseudozanguebariae* qui interviendrait dans l'amertume du café boisson (Barre et al. 1998b). L'absence de caféine serait contrôlée par un gène majeur récessif par rapport à la présence. Un gène majeur codominant interviendrait dans le contrôle de la teneur en hétérosides. La présence de gènes majeurs est favorable à une stratégie d'introgression, cependant des corrélations existent entre teneurs en caféine et en hétéroside, le poids de 100 grains, la taille des feuilles et la durée du cycle de fructification.

LES TECHNIQUES DE CONSERVATION *IN VITRO*

Dans une première étape, l'étude de conditions permettant le maintien à moyen terme de caféiers en recherchant des conditions optimales de vie ralentie ont été effectuées sur quatre espèces *C. congensis, C. canephora, C. liberica* et *C. racemosa* (Bertrand - Desbrunais et al. 1990). *C. congensis* et *C. liberica*, espèces à croissance naturellement lente se maintiennent bien sur des milieux contenant 1,3 mM de 6-benzyladenine (BAP). Les espèces à croissance plus rapide (*C. canephora* et *C. racemosa*) présentent une légère callogenèse mais 1,3 mM semble acceptable pour ces 4 espèces. Des essais ont également montré pour *C. arabica* les possibilités de réduire la concentration en saccharose du milieu à 20 g l-1 et la température à 20 °C (Bertrand-Desbrunais et al. 1992). Jouve et al. (1991) ont testé également la possibilité de conserver des pousses feuillées de *C. arabica* en conditions d'hypoxie à différentes températures. La survie s'est avérée bonne mais la reprise des pousses feuillées, après un mois à 27°C s'est avérée plus faible. Les bases d'une tentative de conservation des ressources génétiques caféières par stockage *in vitro* étaient en place.

Vitrothèque et collection représentative

Le problème majeur auquel doit faire face le gestionnaire de banque de gènes est l'accessibilité des collections à un large ensemble d'utilisateurs. Le concept de « core collection » (collection représentative) est une voie d'approche. Cette collection est définie comme un ensemble qui comporte, avec un minimum de redondance, le plus possible de diversité génétique. Une telle collection n'est pas appelée à remplacer la collection de base mais à faciliter son accessibilité (Hamon et al. 1995a, Noirot et al. 1996).

Pour élaborer une collection représentative, l'organisation génétique du pool génétique des caféiers a été examiné à 3 niveaux : biogéographie, ressources génétiques et données disponibles (Hamon et al 1995). Cette analyse montre qu'une collection représentative de caféiers devrait consister en 88 groupes de diversité de 3 types en fonction du niveau de connaissance : un groupe pour *Coffea arabica*, un groupe par sous ensemble de diversité pour les espèces biens connues telle que *C. liberica* et *C. canephora* et une catégorie avec un grand nombre d'espèces négligées. Différentes stratégies sont appliquées en fonction des catégories. Après avoir défini les groupes de diversité, des tests sont réalisés, en utilisant les données disponibles sur *C liberica*, par une nouvelle méthode (la stratégie des composantes principales). Les résultats montrent que 50 % de l'inertie peut être obtenue avec 10 % des 338 génotypes, 90 % est obtenue avec 50 % des génotypes ce qui correspond bien au modèle défini par Noirot et al. (1996).

Une core collection *in vitro* des espèces africaines de caféiers diploïdes, structurée en 32 groupes de diversité, a été établie en 1991 et conservée en conditions de vie ralentie pendant plus de trois années (6 cycles de culture). L'objectif initial était de conserver 20 accessions par groupe, avec 4 représentants par accession. Un modèle statistique a été développé pour analyser l'évolution des taux de survie au sein de chaque groupe de diversité. L'adéquation du modèle a été démontrée. L'analyse de la survie indique une variabilité très large des accessions pour leur réponse aux conditions de conservation et confirme l'importance de structurer le complexe des caféiers jusqu'au niveau infraspécifique. Les différences mises en évidence au niveaux intra et inter-groupes ont eu des conséquences importantes sur la représentativité génétique de la « core collection » in vitro (Dussert et al. 1997). Quatre classes de groupes de diversité ont pu être établie sur la base des paramètres du modèle.

A Aucune perte en 6 repiquages.

B Perte régulière mais se stabilisant vers 50 %.

C Perte rapide à 50 % dès le premier repiquage mais stable ensuite.

D Perte régulière conduisant à la disparition complète à 6 repiquages.

L'absence de corrélation avec l'origine éco-géographique des groupes de diversité a été démontrée. Les espèces *C. congensis* et *C. humilis* ne posent aucun problème pour la conservation *in vitro* (groupe A). Pour des applications pratiques, la conservation a été maintenue lorsque la dérive génétique intra-groupe est inférieure à 50 %. Enfin, pour *C. canephora*, *C. stenophylla*, *C. racemosa*, *C. sessiliflora* et *C. sp. Moloundou* la conservation *in vitro* n'est pas applicable dans les conditions définies précédemment.

Cryoconservation

Les apex de microboutures *in vitro* de *C. racemosa* et *C. sessiliflora* supportent la congélation dans l'azote liquide en utilisant la technique d'encapsulation-déshydratation (Mari et al. 1995). Une accumulation intense d'amidon est notée après une nuit de culture des apex sur le milieu standard. Les apex de *C. sessiliflora* nécessitent 3 à 10 jours de préculture dans un milieu liquide contenant 0,75 M de saccharose, tandis que ceux de *C. racemosa* nécessitent une augmentation progressive de la concentration en saccharose de 0,5 à 1 M. Après la période de déshydratation, les cellules de certains apex sont très endommagées, présentant des granules osmophiles sur la surface du plasmalemme. Pour d'autres apex, les cellules sont moins endommagées, montrant des vésicules d'exocytose à la périphérie de la membrane plasmique. Après congélation, des taux de survie de 27 à 37 % ont été obtenus pour

C. racemosa et *C. sessiliflora* respectivement. Deux modes de croissances sont observés : développement direct des primordium foliaires ou callogenèse.

Les facteurs influant sur la cryoconservation des embryons de caféiers ont été étudiés (Engelmann et al. 1995). Divers paramètres peuvent avoir une influence significative sur les possibilités de cryoconservation des embryons zygotiques et somatiques de plusieurs espèces à semences récalcitrantes et intermédiaires telles les caféiers. Les embryons ne doivent être utilisés que si leur état physiologique est optimal, notamment en ce qui concerne leur degré de maturité et leur état métabolique. La modification des conditions de reprise peut grandement améliorer le taux de survie des embryons zygotiques. Dans certains cas, une préculture sur un milieu à forte concentration en saccharose est nécessaire pour induire la tolérance à la dessiccation et à la cryoconservation.

La manipulation des embryons zygotiques excisés des graines avant leur congélation reste cependant difficile et nécessite de nombreux équipements. De plus, seuls de petits effectifs peuvent être traités simultanément. Face à ce constat, des essais de cryoconservation de graines entières ont été tentés sur l'espèce *C. arabica* (Dussert et al. 1997). Un taux de germination de 70 % a pu être obtenu après un prérefroidissement à -50°C avant immersion dans l'azote liquide. Toutefois après 3 mois de culture, uniquement 30 % des graines avaient donné des plantules soulignant une faiblesse de l'albumen induite par le froid. Par contre, lorsque les embryons sont extraits de graines cryoconservées par immersion directe dans l'azote liquide sans prérefroidissement le taux de survie atteint 97 % et tous les embryons viables donnent des plantules. L'application de cette procédure à d'autre espèces est en cours de mise en œuvre.

CONCLUSION

Par différentes approches moléculaires, taille du génome, chimie du grain.... la structuration génétique du complexe a été élucidée et des marqueurs sont disponibles pour l'exploitation de l'énorme diversité disponible. Ceci d'autant que les croisements interspécifiques sont mieux maîtrisés et les descendants sélectionnés très tôt. Les techniques de culture *in vitro* et de cryoconservation ont progressé et rendent possible la conservation indéfinie de tout matériel génétique. Les diverses biotechnologies disponibles ont permis des avancées significatives pour l'amélioration génétique des caféiers et la gestion de leurs ressources génétiques et d'une manière plus large pour les plantes pérennes à semences récalcitrantes. Il reste cependant à les faire partager et les rendre plus accessibles aux pays du sud.

Bibliographie

1. ANTHONY F. (1993), Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers : collecte, gestion d'un conservatoire et évaluation de la diversité génétique. TDM 81, ORSTOM, Paris, 320 p.
2. ANTHONY F., LE PIÈRRES D. (1987), La diversité génétique de l'espèce *Coffea congensis* Froehner : évaluation en Côte d'Ivoire de caféiers sauvages originaires de la République centrafricaine. Café Cacao Thé 31:251-266.

3. ANTHONY F., CLIFFORD M.N., NOIROT M. (1992), Biochemical diversity in the genus *Coffea* L. : chlorogenic acids, caffeine and mozambioside contents. Genetic Resources and Crop Evolution 40:61-70.
4. ANTHONY F., DUSSERT S. (1996), Descriptors for coffee (*Coffea* spp. and *Psilanthus* spp.) IPGRI, Rome, Italie, 37 p.
5. BARRE P., NOIROT M., LOUARN J., DUPERRAY C., HAMON S. (1996) Reliable flow cytometry of nuclear DNA content in Coffee trees. Cytometry 24:32-38.
6. BARRE P., LAYSSAC M., D'HONT A., LOUARN J., CHARRIER A., HAMON S., MICHEL N (1998a), Relationship between parental chromosomic contribution and nuclear DNA content in the interspecific hybrids : *C. pseudozanguebariae* and *C. dewevrei*. 96:301-305.
7. BARRE PH., AKAFFOU S., LOUARN J., CHARRIER A., HAMON S., NOIROT M. (1998b), Inheritance of caffeine and heteroside contents in an interspecific cross between a cultivated coffee species *Coffea liberica* var *dewevrei* and a wild species caffeine-free *C. pseudozanguebariae*. Theor Appl Genet, 96:306-311.
8. BERTHAUD J., ANTHONY F., LE PIERRÈS D. (1984), Les caféiers de la Nana. résultats des observations faites en collection en Côte d'Ivoire. Café Cacao Thé 28:3-12.
9. BERTHAUD J., CHARRIER A. (1988), Genetic resources of Coffea. In Coffee Vol 4 : Agronomy. RJ Clarke & R. Macrae Eds. Elsevier Applied Science (London) : 1-42
10. BERTHAUD J. (1986), Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes : évaluation de la richesse génétique des populations sylvestres et de ses mécanismes organisateurs. TD 188, ORSTOM, Paris, 372 p.
11. BERTHOU F., TROUSLOT P., HAMON S., VEDEL F., QUETIER F. (1980), Analyse en électrophorèse du polymorphisme biochimique des caféiers : variation enzymatique dans 18 populations sauvages, variation de l'ADN mitochondrial dans les espèces *C. canephora, C. eugenioides* et *C. arabica*. Café Cacao Thé 24:313-326.
12. BERTRAND-DESBRUNAIS A., NOIROT M., CHARRIER A. (1990), Slow growth in vitro conservation of coffee (*Coffea spp.*) : Influence of low concentration of 6-benzyladenine Plant Cell Tissue & Organ Culture 27:333-339.
13. BERTRAND-DESBRUNAIS A., NOIROT M., CHARRIER A. (1992), Slow growth *in vitro* conservation of coffee (*Coffea spp.*) : 2 influence of reduced concentrations of sucrose and low temperature. Plant Cell Tissue & Organ Culture 31:105-110.
14. CHARRIER A. (1978), La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea*). Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (Eucoffea). Mémoire ORSTOM 87, 223 p.
15. CHARRIER A., BERTHAUD J. (1975), Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. Café Cacao Thé 19 : 257-264.
16. CLIFFORD MN., GIBSON C.L., RAKOTOMALALA JJ.R., CROS E., CHARRIER A. (1991), Caffeine from green beans of *Mascarocoffea*. Phytochemistry 30:4039-4040.
17. CROS J. (1994), Implications phylogénétiques des variations de l'ADN chloroplastique chez les caféiers. Thèse Montpellier II, 160 p.
18. CROS J., COMBES M.C., CHABRILLANGE N., DUPERRAY C., MONNOT DES ANGLES A., HAMON S. (1995), Nuclear DNA content in the subgenus *Coffea* (*Rubiaceae*) : inter and intra-specific variation in African species. Can J Bot 73:14-20.
19. CROS J., COMBES M.-C., TROUSLOT P., ANTHONY F., HAMON S. CHARRIER A. LASHERMES P (1998), Phylogenetic analysis of chloroplast DNA variation in *coffea L.*, Mol Phyl Evol 9:109-111.
20. DUSSERT S., CHABRILLANGE N., ANTHONY F., ENGELMANN F., RÉCALT C., HAMON S (1997), Variability response within a coffee (*Coffea* spp.) core collection under slow growth conditions. Plant Cell Reports 16:344-348.
21. DUSSERT S., CHABRILLANGE N., ENGELMANN F., ANTHONY F., HAMON S. (1997), Cryopreservation of coffee (*Coffea arabica L.*) seeds : importance of the precooling temperature. Cryoletters 18:269-276.
22. ENGELMANN F., DUMET D., CHABRILLANGE N., ABDELNOUR-ESQUIVAL A , ASSY-BAH B., DERREUDRE J., DUVAL Y. (1995), Factors affecting the cryopreservation of coffee, coconut and oil palm embryos. Plant Genetic Resources Newsl. 103:27-31.
23. HAMON S., DUSSERT S., NOIROT M. (1995a), Core collections - accomplishments and challenges. Plant Breeding Abstracts 65:1-8.
24. HAMON S., NOIROT M., ANTHONY F. (1995b), Developing a coffee core collection using the principal components score strategy with quantitative data In Core Collection of Plant Genetic Resources. Eds Hodgkin et al. Wiley-Sayce Publication : 117-126.
25. JOUVE L., ENGELMANN F., CHARRIER A. (1991), Effets de l'hypoxie et de la température sur la conservation *in vitro* de pousses feuillées de *Coffea arabica*. Café Cacao Thé 35:205-210.

26. KY C.L., NOIROT M., HAMON S. (1997), Comparison of five purification methods for chlorogenic acids in green coffee beans (*Coffea* sp.). J. Agric. Food Chem. 45:786-790.
27. LASHERMES P., COUTURON E., CHARRIER A. (1994a). Doubled haploids of *Coffea canephora* : development, fertility and agronomic characteristics Euphytica. 74:149-157.
28. LASHERMES P., COUTURON E., CHARRIER A. (1994b), Combining ability of doubled haploids in *Coffea canephora*. Plant Breeding 112:330-337.
29. LASHERMES P., CROS J., COMBES M.C., TROUSLOT P., ANTHONY F., HAMONÊS., CHARRIER A. (1996a), Inheritance and restriction fragment length polymorphism of chloroplast DNA in the genus *Coffea* L. Theor. Appl. Genet 93:626-632.
30. LASHERMES P., COMBES M.C., TROUSLOT P., ANTHONY F., CHARRIER A. (1996b), Molecular analysis of the origin and genetic diversity *of Coffea arabica* L. : Implications for coffee improvement. Euphytica 87 : 23-29.
31. LASHERMES P., TROUSLOT P. ANTHONY F., COMBES M.C.,CHARRIER A. (1996c), Genetic diversity for RAPD markers between cultivated and wild accessions of *Coffea arabica*. Euphytica 87:59-64.
32. LASHERMES P., COUTURON E., MOREAU N., PAILLARD M., LOUARN J. (1996d), Inheritance and genetic mapping of self-sterility in *Coffea canephora* Pierre. Theor. Appl. Genet. 93:458-462.
33. LASHERMES P., COMBES M.C., TROUSLOT P., CHARRIER A. (1997). Phylogenic relationships of coffee-tree species as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. Theor. Appl. Genet. 94:947-955.
34. LEPIÈRRES D. (1995), Étude des hybrides interspécifiques tétraploïdes de première génération entre *C. arabica* et les caféiers diploïdes. Thèse de l'Univerité de Paris XI, Orsay, 190 p.
35. LOUARN J. (1993), La fertilité des hybrides interspécifiques et les relations génomiques entre les caféiers diploïdes d'origine africaine. Thèse Paris XI Orsay, 190 p.
36. MARI S., ENGELMANN F., CHABRILLANGE N., HUET C., MICHAUX-FERRIÈRE N. (1995), Histocytological study of apices of coffee (*Coffea racemosa* and *C.Êsessiliflora*) *in vitro* plantlets during their cryopreservation using the encapsulation-dehydration technique. Cryo-Letters 16:289-298.
37. NOIROT M., ANTHONY F., HAMON S. (1996). The principal component scoring - a new method for constituing a core collection. Genetic Resources and Crop Evolution 43·1-6.
38. PAILLARD M., LASHERMES P., PÉTIARD V. (1996), Construction of a molecular linkage map in coffee. Theor. Appl. Genet. 93:41-47.
40. RAKOTOMALALA J.J., CROS E., CLIFFORD M., CHARRIER A. (1992), Caffeine and theobromine in green beans from mascarocoffea. Phytochemistry : 31:1271-1272.

A8 : Les biotechnologies appliquées à l'amélioration génétique et la propagation du Cacaoyer au Mexique

LOPEZ-BAEZ O.[1], FRAIRE-VAZQUEZ G.[1], HERNANDEZ-VELASCO B.[1], HOLGUIN-MELENDEZ F.[1], CUETO-MORENO J.[1], CROUZILLAT D.[2]

[1] INIFAP CE Rosario Izapa, km 18 route à Cacahotan, Tapachula. 30700, Chiapas, Mexique. B.P. 96. tél./fax 52 (962) 3 01 54.

[2] Centre de recherche Nestlé-Tours. 101 av. Gustave Eiffel, Notre-Dame d'Oe. B.P. 9716. 37097 Tours cedex, France. tél./fax: 47 49 14 14.

INTRODUCTION

Originaire de l'Amérique tropicale, le cacaoyer *Theobroma cacao L.* est un arbre dont les graines fournissent le produit alimentaire consommé sous le nom de chocolat. De plus, le beurre contenu dans les fèves a des applications dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

Le cacaoyer est un produit important du commerce mondial et a un rôle très important dans l'économie de près de 45 pays.

Au Mexique, la superficie plantée est de 90 000 hectares avec une production annuelle de 41 000 tonnes de fèves. Les rendements moyens de cacao marchand par hectare restent très faibles : 300-400 kg.

La production cacaoyère se trouve en général affectée par trois grandes contraintes :

a) La maladie de la « pourriture brune » causée par *Phytophthora palmivora.*

b) La culture de variétés de bas potentiel productif.

c) L'âge des plantations, dont environ 80 % ont plus de 40 ans.

Due aux problèmes posées par la culture et la multiplication des variétés améliorées, l'Institut National des Recherches Agronomiques et Forestières (INIFAP) du Mexique, développe un programme de recherche à la station de Rosario Izapa, en Tapachula, Chiapas.

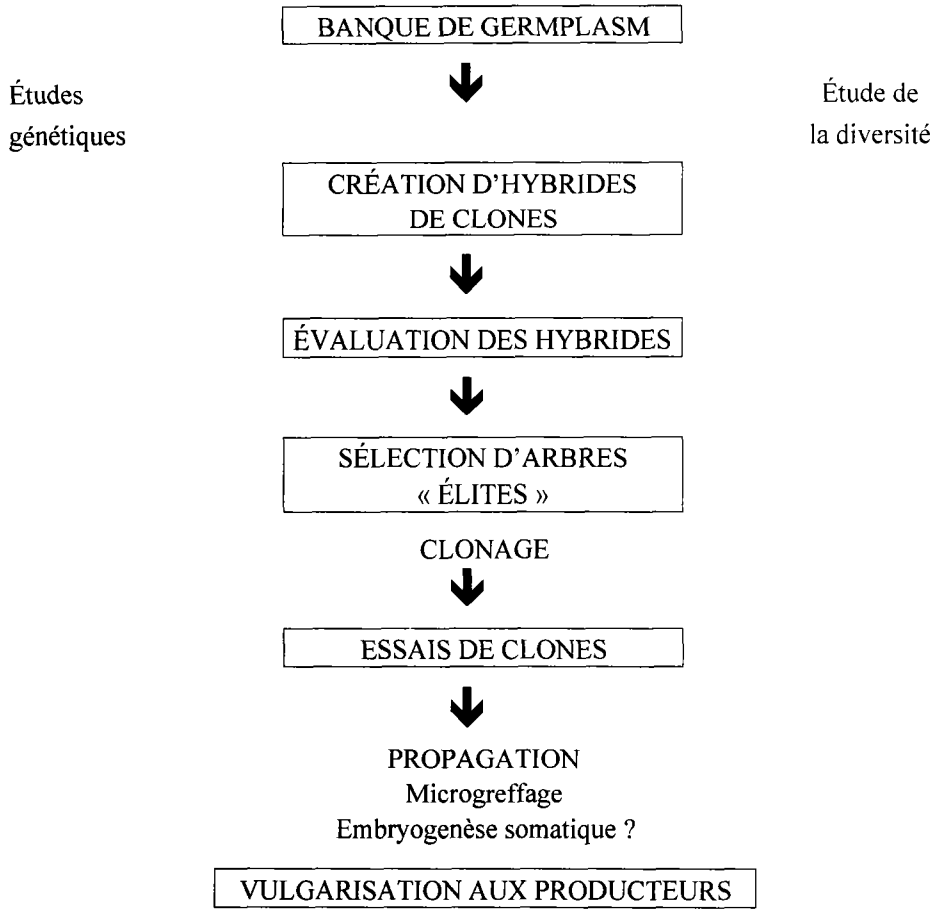
Les objectifs de ce programme sont l'augmentation du rendement, l'amélioration de la résistance aux maladies, et la qualité des fèves. Dans cette communication sont présentés les progrès obtenus dans ce programme de recherche.

LA STRATÉGIE D'AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE

La stratégie d'amélioration et de sélection appliquée chez le cacaoyer est schématisée dans la **figure 1**. Elle est basée sur la création de descendances F1 ou « hybrides de clones », suivie de la sélection individuelle des meilleurs arbres pour la formation de clones qui sont évalués dans des essais clonaux.

Ce schéma comporte différentes étapes fondamentales, qui sont : l'établissement d'une collection et son étude ; l'hybridation et l'évaluation des descendances interclonales, la sélection clonale et la propagation végétative des meilleurs clones.

Figure 1. Stratégie d'amélioration génétique et sélection de cacaoyer au mexique.



ÉTAT ACTUEL DES TRAVAUX ET RÉSULTATS

Le germoplasme et son étude

La collection de germoplasme du cacaoyer de l'INIFAP comporte 175 clones venant de 9 pays d'Amérique. Elle est conservée sous forme de collection vivante dont les individus sont multipliés par bouturage.

L'étude de cette collection comprend : la description des caractères de la cabosse et de la fève ; l'analyse RFLP de l'ADN nucléaire et la réaction de sensibilité à *Phytophtora palmivora*. La caractérisation botanique a été initiée en 1994, les résultats de la variation des caractères de la cabosse et de la fève, obtenus sur 105 clones, sont présentés dans le **tableau 1**, et sont indicatifs d'une forte variabilité pour ces caractères.

Tableau 1 : Caractère de la cabosse et de la feve de 105 clones de la collection de l'INIFAP. 1997.

CARACTERE	C.V.	VAL. MAX.	GENOTYPE	VAL. MIN.	GENOTYPE
Cabosse					
Poids	19.3	778.7	ICS-1	287.8	SCA-6
Longueur	14.3	24.7	RIM-13 RIM-68	12.3	SIAL-93
Diamètre	7.3	9.6	EET-94	6.5	SCA-6
Fèves					
No. par cabosse	13.4	44.8	IMC-67	22.1	Esm. Amar.
Poids frais	19.1	205.7	UF-11	74.9	SCA-6
Poids sec	21.3	1.76	UF-12	0.57	SCA-6
Teneur en coque	22.2	11.8	RIM-223	4.0	9-TAB-986

VAL. MAX = Valeur maximale.
VAL. MIN = Valeur minimale.
C V = Coefficient de Variation.

Une comparaison des clones basée sur leurs origines, permet d'établir que les clones Mexicains, en général, présentent de cabosses et de fèves avec des valeurs supérieures à la plupart des clones importés.

L'analyse RFLP du germoplasme a été initiée en 1996. L'ADN génomique a été obtenu à partir de feuilles fraîches ; pour l'hybridation, 5 picogrammes de chaque échantillon ont été digérés par l'enzyme de restriction Hind III. L'analyse, encore incomplet, montre que d'un groupe de 30 sondes RFLP, appliquées sur 124 clones, 29 d'entre elles (9 7%) permettent de distinguer le polymorphisme présent dans ce groupe, en générant 56 bandes polymorphes. Le polymorphisme des fragments de restriction de l'ADN permet de différencier 77 des 124 génotypes étudiés.

Les génotypes restants (47) sont séparés en 6 groupes ; chaque groupe comporte un certain nombre de clones où il n'a pas été possible d'établir de différences au niveau des génotypes.

L'intégration des données botaniques et moléculaires dans une analyse comprenant l'ensemble des génotypes, encore incomplète, montre que les génotypes Mexicains constituent, excepté pour certains clones prospectés dans la Forêt « Lacandona », une population à base génétique réduite et s'apparentant aux génotypes du Guatémala.

D'autre part, des génotypes provenant du Brésil, d'Équateur, du Costa Rica et du Pérou apparaissent très divergents. Ces résultats confirment ainsi des études précédentes faites sur du matériel Mexicain et suggèrent d'augmenter la diversité de la collection de germoplasme de l'INIFAP, par l'importation ainsi que par de nouvelles prospections dans la forêt et dans des anciennes plantations.

L'évaluation de la réaction du germoplasme à *Phytophthora palmivora* est réalisée par l'inoculation de fruits âgés de 3 mois, qui restent attachés à la plante. Le fruit est inoculé au centre, en deux points opposés, chaque point avec une goutte contenant environ 24,000 zoospores. Pour chaque clone un échantillon minimum de 15 fruits est utilisé. Les observations du taux de fruits infectés et du diamètre moyen de la tache de tissu nécrosé, sont faites six jours après inoculation. En prenant le diamètre de la tache, comme critère de sélection, un clone est considéré résistant lorsque cette valeur est inférieure à 2 cm.

Les résultats obtenus sur 60 clones évalués, indiquent que 38 présentent une réaction de résistance, car leur diamètre ne dépasse pas la valeur limite. Le classement de ces clones est présenté dans le **tableau 2**. Parmi les plus résistants on peut signaler : SCA-6, EET-400, 9-TAB-986, 12-TAB-986, CHUAO-120, 8-CHI-986, SPA-9, SCA-12, POUND-7, UF-705, EET-48, et CC-225.

Tableau 2. Clones de cacaoyer de la collection de l'INIFAP résistants à *P. palmivora.*

GENO TYPE	DIAM. DE LESION	INFECTION %	GENO TYPE	DIAM.DE LESION	INFECTION %
SCA-6	0	0	ICS-1	0.91	100
9-TAB-986	0	0	RIM-24	1.01	61
CHUAO-120	0	0	PA-121	1.01	100
8CHI-986	0	0	RIM-88	1.07	49
12-TAB-986	0	0	EET-59	1.64	100
SGU-85	0	0	STA CLARA-3	1.13	100
UF-705	0	0	RIM-228	0.81	100
CC-225	0	0	ESM.AMAR	1.02	100
EET-400	0.01	5	IQ-1	1.04	100
EET-95	0.02	10	SIAL-407	1.11	100
EET-48	0.03	9	EET-164	1.13	86
SPA-9	0.04	17	EET-399	1.60	25
SCA-12	0.08	5	NA-34	1.16	93
POUND-7	0.09	25	RIM-105	1.16	67
EET-376	0.03	51	CATIE-1000	1.80	95
RB-46	0.11	100	EET-94	1.79	100
RB-41	0.2	62	UF-296	1.22	100
PORCEL-3	0.42	100	UF-667	1.35	64
PA-13	1.67	67	PI-1963	1.76	100
PA-169	0.56	100	ICS-6	1.53	100
EET-164	0.71	86	PI2-1962	1.54	100
OC-77	1.92	100	SIAL-56	1.76	100
CC-210	1.74	100			

ÉVALUATION ET SÉLECTION D'HYBRIDES INTERCLONAUX

La sélection générative, c'est-à-dire la création et l'évaluation d'hybrides interclonaux a débuté en 1984. À partir de cette année, 66 croisements ont été testés à partir d'essais comparatifs installés entre 1984 et 1988.

Les essais d'hybrides sont implantés suivant un dispositif statistique en randomisation totale mono-arbre. Contrairement aux essais d'hybrides, les essais de clones sont plantés suivant un dispositif en blocs au hasard dont chaque unité est composée de 8 plantes.

Les principaux résultats de cette étape apportent les informations sur la vigueur, la précocité en production, le rendement et la sensibilité au *Phytophthora*. L'analyse de la production montre une forte vigueur hybride pour la croissance, la précocité et le rendement. Plus de 48 % des hybrides testés sont supérieurs à l'*amelonado* régional cultivé par les paysans. Les hybrides les plus producteurs sont généralement aussi les

plus précoces, avec un début de production à partir de la deuxième année après plantation et une entrée en pleine production cinq ans après plantation, soit environ 3 ans avant les *amelonados* locaux. La production des meilleures familles se situe autour de 1,5 à 2 tonnes de cacao marchand. Les meilleures descendances ont été obtenues lorsque les clones importés POUND-7, SCA-6, EET-48, EET-59, CC-266 sont croisés aux clones Mexicains RIM-2, RIM-23, RIM-48 et RIM-75.

Les meilleurs arbres sélectionnés à partir des premiers essais d'hybrides ont été clonés et mis en essai de confirmation au champ depuis 1995. Dans le **tableau 3** sont présentés les rendements par plante par an des 15 meilleures sélections ; parmi les plus productrices on peut noter les sélections 8 ; 9 ; 12 ; 20 ; 21 et 24 ; certaines d'entre elles avec des rendements qui sont supérieurs à 2 kg par arbre par an. Ce matériel végétal constitue la prochaine sortie variétale et pourra être mis à la disposition des planteurs d'ici à trois ans.

Tableau 3 : caractéristiques des arbres élite sélectionnés dans de familles d'hybrides.

GÉNOTYPE	No. DE SÉLECTION	REND. ANNUELLE g	POIDS DE FÈVES SÈCHES (g)
CC-210 x RIM-23	1	1256	0.86
CC-210 X RIM-75	4	612	0.96
CC-210 X RIM-75	5	1228	1.12
SCA-6 X RIM-2	8	2460	0.64
SCA-6 X RIM-2	9	2504	1.04
POUND-7 X EET-48	12	3744	0.97
POUND-7 X RIM-2	13	672	1.3
EET-59 X CC-266	16	1980	1.12
POUND-7 X RIM-23	20	2728	1.01
IMC-67 X RIM-23	21	2652	1.0
SCA-6 X RIM-75	24	3240	0.98
SCA-6 X RIM-75	25	1088	0.88
SCA-6 X RIM-23	27	1984	0.88
POUND-7 X RIM-75	30	1032	1.22
POUND-7 X RIM-75	31	1244	1.12

Des études pour évaluer le comportement vis-à-vis du *Phytophthora* des clones sélectionnés sont en cours. Des résultats préliminaires indiquent la présence de hauts niveaux de résistance au pathogène dans ces descendances.

En même temps, des parcs à bois des meilleures sélections sont mis au champ maintenant afin d'appuyer la multiplication végétative en masse.

CARTOGRAPHIE DES GÈNES D'INTÉRÊT AGRONOMIQUE

La mise en évidence d'une liaison entre un caractère et un marqueur, ainsi que sa cartographie, constitue l'étape préliminaire pour la mise en place d'une sélection assistée par marqueurs moléculaires. Cette stratégie d'association des marqueurs QTL à des caractères agronomiques a été déjà mise en place pour d'autres populations de cacaoyer.

Avec cette base, une population ségrégeante de 500 plantes obtenues à partir du croisement entre le clone POUND-7 (Péruvien, Forastero, auto-incompatible,

fortement résistant au Phytophthora) et le clone RIM-76A (Criollo, Mexicain, sensible au Phytophthora, auto-compatible) a été établie au champ en 1996, en deux localités. Sur cette population, deux caractères agronomiques (diamètre du tronc et hauteur de la couronne) ont été déjà évalués 7 mois après la plantation ; l'analyse des QTL pour ces caractères commencera bientôt.

Dans l'avenir, on envisage l'étude d'autres caractères d'intérêt agronomique tels que le rendement, le nombre d'ovules par ovaire, la réaction à *Phytophthora*, le poids des fèves, le contenu de matière grasse, entre autres.

PROPAGATION DES VARIÉTÉS AMÉLIORÉES

Pour la multiplication des meilleurs clones, une technique de propagation par microgreffage en plantule a été mise au point; ce procédé est caractérisé par :

- L'utilisation d'une plantule âgée de 10-15 jours comme porte-greffe.
- L'utilisation de porte-greffes à génotypes compatibles avec les greffons ; après évaluation d'un certain nombre, les clones POUND-7, EET-48, SPA-9, EET-59, et CC-210 ont été retenus.
- Le greffage pratiqué est la greffe en écusson dont le bourgeon déjà « démarré » a entre 1 et 2 mm de longueur.
- Le succès de cette voie de propagation oscille entre 60 et 80 % et la reprise de la croissance du bourgeon est très rapide ; 4 mois après le greffage de plantes prêtes à être plantées au champ sont obtenues.

Un essai préliminaire d'adaptation pour la production en masse de plantes par cette voie de propagation montre qu'un rendement moyen de 10 000 plantes est possible tous les mois.

À partir de résultats obtenus auparavant concernant l'induction d'embryogenèse somatique à partir des explants de tissu maternel, des expériences en cours, sont orientées vers l'adaptation de ce protocole aux génotypes sélectionnés par l'INIFAP.

À présent, des pièces florales de 4 génotypes ont été mises en culture en suivant un protocole d'induction-expression dans un milieu « MS » complémenté avec 2,4-D et kinétine à diverses concentrations. Les premiers résultats montrent la formation de tissu à aptitude embryogène à partir de pétales et de staminodes dans un génotype. Les premiers embryons obtenus ont été transférés dans d'autres milieux afin de poursuivre leur germination et leur conversion en plantules *in vitro* ; jusqu'au présent leur développement semble être normal.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les résultats obtenus jusqu'à présent, même s'ils sont encore incomplets, apportent des progrès remarquables qui pourraient être utiles pour la revalorisation de la culture du cacaoyer dans les régions tropicales du Mexique.

La description morphologique complétée par les marqueurs moléculaires a révélé un polymorphisme très important et permet une bonne caractérisation de la majorité de clones étudiés.

La diversité observée dans la collection s'avère relativement élevée. Cette base génétique actuellement disponible, pour le moment, apparaît suffisante pour le développement d'un programme d'amélioration génétique basé sur l'obtention d'un effet hétérosis entre des génotypes éloignés génétiquement. L'estimation des distances génétiques entre les clones pourrait permettre d'obtenir des effets d'hétérosis en évitant de croiser des individus génétiquement trop proches.

En ce qui concerne l'hybridation, les descendances testées ont une vigueur et une précocité tout à fait remarquables ; leur première récolte intervient deux ans après leurs plantations. Ils montrent un potentiel de rendement de 1,5 à 2 tonnes de cacao marchand à l'hectare, en conservant un haut niveau de résistance au *Phytophthora*, ce qui dépasse largement la production des cacaoyers cultivés traditionnellement dont les rendements oscillent entre 300 et 400 kg à l'hectare en plantation adulte. Ces clones améliorés pourraient être mis à la disposition des planteurs bientôt.

D'autre part, dans le cas du cacaoyer, plante pérenne, allogame, à long cycle, la sélection assistée par marqueurs moléculaires permet d'envisager un certain nombre d'applications. Une nouvelle voie de recherche en cours, intégrant l'utilisation des marqueurs QTL pour la résistance à Phytophthora et d'autres caractères agronomiques devrait permettre d'associer des caractères intéressants avec des marqueurs et de cette manière initier une sélection plus efficace.

Par ailleurs, les résultats obtenus sur la propagation par microgreffage et l'extrapolation du protocole d'induction d'embryogenèse somatique à partir de pièces florales sont très encourageants, car une application très importante du clonage, soit par microgreffage soit par embryogenèse somatique, serait la multiplication végétative d'arbres élite « F1 » sélectionnés parmi les produits de croisements contrôlés entre clones.

Une amélioration de la production peut être directement acquise par le clonage des meilleurs individus sélectionnés dans des familles d'hybrides ; cela conduirait à des variétés cultivées sous forme de populations où les combinaisons favorables manifestant le plus d'hétérosis seraient directement multipliés et exploités.

Ainsi, le microgreffage et l'embryogenèse somatique peuvent engendrer des modifications fondamentales aux stratégies de sélection et de multiplication du cacaoyer par une meilleure exploitation des possibilités offertes par le clonage, surtout pour les caractères de résistance aux maladies et qualité de fèves.

De plus, la maîtrise de la régénération par embryogenèse somatique ouvre les voies à de nombreuses applications comme la transformation génétique, la création de variation somaclonale, l'hybridation somatique et la mutagenèse induite, lesquelles constituent des opportunités importantes pour l'amélioration génétique du cacaoyer.

Les résultats obtenus jusqu'à présent, constituent un progrès très important et établissent les bases pour que de nombreuses études d'intérêt fondamental ou appliqué chez le cacaoyer puissent être réalisées concernant l'amélioration, le determinisme du contrôle génétique des caractères et la régénération par embryogenèse somatique *in vitro*.

Bibliographie

1. CROUZILLAT D., LERCETEAU E., PETIARD V., MORERA J., RODRIGUEZ H., WALKER D., PHILLIPS W., RONNING C., SCHNELL R., OSEI J., FRITZ P. (1996), *Teobroma cacao* L. : a genetic linkage map and quantitative trait loci analysis. Theor. Appl. Genet. 93:205-214.
2. ENGELS J.M.M., BARTLEY B.G.D., ENRIQUEZG.A. (1980), Cacao descriptors, their status and *modus operandi*. Turrialba (Costa Rica) 30:209-218.
3. LERCETEAU E. 1996. Diversité génétique, recherche de QTL et analyse des profils protéiques de fèves de *Theobroma cacao* L. pendant la fermentation. Consequences sur la qualité. Tesis de Docteur en Sciences de l'Université Paris XI Orsay. 257p.

4. LÓPEZ B.O.Y., MÉNDEZ W.D. (1992), Características de la flor y la semilla del germoplasma de cacao *Theobroma* cacao L. selectionado en Rosario Izapa, Chiapas Agricultura Técnica en México 18 (1):39-48.
5. LÓPEZ B.O., MULATO B.J.Y., LÓPEZ A.I. (1992), Recursos fitogenéticos del cacao *Theobroma* cacao L. disponibles en México. Agricultura Técnica en México 18 (1):25-38.
6. LÓPEZ B.O. (1994), Embryogenèse somatique et régénération de plantes de cacaoyer *Theobroma cacao* L. à partir de pièces florales. Tesis de Docteur en Sciences de l'École Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. Rennes, France. 137 p.
7. LÓPEZ B.O. (1995), Características del fruto del germoplasma de cacao *Theobroma cacao* L. seleccionado en Rosario Izapa, Chiapas, México. Agricultura Técnica en México 21 (2):127-137.
8. LÓPEZ B.O., CUETO M.J., FRAIRE V.G. (1995), Progress in cocoa *Theobroma* cacao L. breeding in Mexico. *In* : Internacional Workshop on Cocoa Breeding Strategies, 18-19 oct. 1994, Kuala Lumpur, Malaysia. Proceedings : 18-25.
9. LÓPEZ B.O., FRAIRE V.G.Y., CUETO M.J. (1996), Breeding for genetic resistance to *Phytophthora disease* in Mexico. *In :* International Workshop on the Contribution of Disease Resistance to Cocoa Variety Improvement. INGENIC, 25-26 november, Salvador, Bahía, Brasil. Abstracts.
10. RABOIN L.M., PAULIN D., CILAS C., ESKES A.B. (1993), Analyse génétique de quelques caractères quantitatifs des fleurs du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Leur intérêt pour l'évaluation de la diversité de l'espèce. Café Cacao Thé 37 (4):273-282.
11. ZADOKS J.C. (1996). Phytopathological aspects of disease resistance and resistance breeding in cocoa : an external review. *In*: International Workshop on the contribution of disease resistance to cocoa variety improvement, 25-26 nov., Salvador, Bahia, Brasil. Abstracts: 6-7.

A9 : Micropropagation clonale par embryogenèse somatique du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq). Programmes de recherche liés au transfert d'échelle

RIVAL A.[1], ABERLENC-BERTOSSI F.[1], MORCILLO F.[1], TREGEAR J.[1], VERDEIL J.-L.[1], DUVAL Y.[1], DURAND-GASSELIN T.[2], KONAN E.K.[2], KOUAME B.[2]

[1] CIRAD-CP/ORSTOM - Laboratoire de Ressources Génétiques & Amélioration des Plantes Tropicales. B.P. 5045, 34032 Montpellier, Cedex 01, France.

e-mail : rival@orstom.fr

[2] IDEFOR/DPO - Station Principale de La Mé. 13 BP 989 Abidjan, Côte d'Ivoire.

INTRODUCTION

La micropropagation clonale du palmier à huile (*Elaeis guineensis Jacq*) par embryogenèse somatique a été obtenue par diverses équipes de recherche à travers le monde (Corley et al., 1977 ; Pannetier et al., 1981 ; Paranjothy, 1984). Les protocoles de multiplication végétative *in vitro* ainsi établis ont conduit à la production de plusieurs millions de vitroplants clonaux à ce jour. Les avantages de cette stratégie pour les programmes d'amélioration variétale ont été bien établis sur un plan théorique (Soh, 1986 ; Meunier et al., 1988). Ils ont été validés par l'étude du comportement au champ des régénérants sur plus de 2 500 ha de plantations clonales (Duval et al., 1995, 1997).

Le changement d'échelle opéré à partir du début des années 80 a permis de mettre en évidence plusieurs facteurs qui limitent encore aujourd'hui le développement commercial du procédé de micropropagation.

Les contraintes identifiées lors du changement d'échelle ont ainsi été à l'origine de programmes de recherche fondamentale dans les domaines de la physiologie de la plante et de la semence, ainsi que de la biologie moléculaire.

Le but du présent article est de présenter les différentes étapes franchies par le groupe ORSTOM/CIRAD/IDEFOR, et ses partenaires dans les pays producteurs, lors du développement à l'échelle pilote d'un protocole de micropropagation du palmier à huile par embryogenèse somatique.

MISE EN PLACE D'UN PROCÉDÉ DE PRODUCTION

Le clonage du palmier à huile (*Elaeis guineensis Jacq*) est réalisé par embryogenèse somatique sur des cals d'origine foliaire, à l'aide du protocole décrit précédemment (Pannetier et al., 1981, Duval et al., 1995). La callogenèse est obtenue à l'obscurité (27°C) sur un premier milieu de culture contenant du 2,4-D. Après 12 à 20 semaines, les cals sont isolés et transférés sur un nouveau milieu appauvri en auxines. Les formations embryogènes se développent à la surface des cals après un délai de culture variable. Elles sont ensuite isolées et transférées sur un milieu dépourvu de régulateurs de croissance. Dans les cas favorables, une embryogenèse adventive se met en place et

conduit à une prolifération indéfinie des cultures d'embryons. On obtient donc des cultures polyembryoniques stabilisées, dans lesquelles les embryons somatiques les plus âgés se développent en pousses feuillées, qui sont isolées manuellement et transférées sur un milieu d'enracinement. Ce milieu, enrichi en auxines permet un enracinement *in vitro* des pousses feuillées en 8 semaines environ. Les plantules obtenues sont ensuite sevrées sous tunnel d'acclimatation durant un mois, puis transférées en pré-pépinière. Elles subissent alors les mêmes traitements que les plantules issues de semis.

Les transferts de technologie à partir du Laboratoire de recherche vers les unités de production à l'échelle pilote ont été initiés en 1982. Un laboratoire, conçu pour une capacité de production annuelle de 250 000 vitroplants a été construit à l'IDEFOR-DPO (Côte d'Ivoire). En 1985-86, deux autres Laboratoires basés sur le même modèle furent ouverts en Indonésie, chez des partenaires du secteur privé (SOCFINDO) et public (IOPRI - Indonesian Oil Palm Research Institute). Simultanément, une unité semblable était installée en Malaisie, en collaboration avec une agence nationale de développement (FELDA - Federal Land Development Authority). Une filiale de droit privé du CIRAD fut créée (TROPICLONE S.A.) en 1987 et un laboratoire de production construit en France, dans les environs de Montpellier.

ÉVALUATION DU PROCÉDÉ PILOTE EN CÔTE D'IVOIRE

Depuis 1981, les chercheurs de l'IDEFOR-DPO (Institut des Forêts - Département des Plantes Oléagineuses) conduisent des recherches en collaboration avec l'ORSTOM et le CIRAD-CP, au sein du Laboratoire de Multiplication Végétative de la Station Principale de La Mé. Le protocole de régénération a été évalué sur une grande échelle grâce a un programme soutenu de plantation d'essais clonaux. Après plus de quinze ans d'activité, le laboratoire de l'IDEFOR-DPO a acquis une somme considérable de données sur les performances du procédé (Duval et al., 1995, 1997, Konan et al., 1996).

Depuis l'ouverture du Laboratoire, 496 palmiers ont été clonés, appartenant à diverses origines génétiques, incluant des individus pisifera, des rétrocroisements [*Elaeis guineensis* x (*Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera*)] et des individus clonaux. Tous les palmiers prélevés ont fourni des cals sur explants foliaires en suivant le procédé de micropropagation standard. Le taux de callogenèse varie en fonction de l'origine génétique de la plante mère. En outre, pour un croisement donné, les taux de callogenèse varient considérablement, avec des coefficients de variation compris entre 20 et 175 %. Sur l'ensemble des palmiers clonés, 82 % ont présenté au moins une fois une embryogenèse somatique effective. Ce phénomène est extrêmement lent (jusqu'à deux ans) et demeure difficile à maîtriser. À ce jour, le Laboratoire a produit plus de 750 000 plants à partir de 216 clones. La surface totale plantée en clones en Côte d'Ivoire (essais génétiques + plantations commerciales) atteint 800 hectares.

Sur les 22 clones plantés en essais en Côte d'Ivoire, 16 présentent des rendements en huile à l'hectare supérieurs au matériel témoin issu de reproduction sexuée (L2T x D10D). Les gains de productivité sont de 10 à 54% pour ces clones. En outre, 15 clones produits par les laboratoires SOCFINDO, IOPRI et ORSTOM ont montré des rendements supérieurs de 8 à 44 % à ceux du témoin. La mise en évidence au champ de clones à très haut potentiel confirme les prévisions théoriques réalisées par les sélectionneurs (Soh, 1986 ; Meunier et al., 1988) sur l'intérêt de multiplier végétativement les individus d'élite sélectionnés dans les tests de descendance.

Toutefois, le changement d'échelle effectué dans les différentes unités pilotes a mis en évidence divers obstacles à la diffusion du protocole.

FACTEURS LIMITANTS

Le changement d'échelle effectué au cours des années 1980-1990, en collaboration avec différents partenaires et sur des lieux de production différents, a révélé partout les mêmes contraintes. Les principaux facteurs limitants ont été identifiés dans deux domaines majeurs : les coûts de production et la conformité génétique des régénérants.

Coûts de production

Les protocoles de culture *in vitro* sont, d'une manière générale, extrêmement lents chez les palmacées, chaque étape nécessitant des délais bien supérieurs à ceux observés chez d'autres espèces. Ces caractéristiques ont été également décrites chez le cocotier (*Cocos nucifera L.*) par Verdeil & Buffard-Morel (1995). En moyenne, 18 mois sont nécessaires entre le prélèvement du plant mère et la sortie ex-agar des premiers lots de production de plantules (Duval et al., 1995). Ces caractéristiques ont un impact négatif sur les coûts de production, en augmentant le taux d'occupation des infrastructures et donc les frais fixes. En outre, le procédé dans son ensemble reste exigeant en main d'œuvre, car plusieurs étapes font appel à des opérations manuelles extrêmement délicates (sélection et isolements des cals, choix des structures embryogènes compétentes, séparation des pousses feuillées avant induction racinaire,...). Ces coûts de production élevés ne permettent pas d'abaisser le prix de vente des vitroplants en deçà de 7 fois le prix des semences hybrides améliorées (soit 3 à 5 US$ par plant). En outre, le protocole de régénération en cours aujourd'hui ne permet pas une production à grande échelle, c'est-à-dire de l'ordre de 10^4-10^5 plants par clone et par an. Très peu de clones peuvent actuellement offrir une production annuelle de l'ordre de 10^4 plants. Pour un clone donné, la gestion des cultures et la stratégie de production déterminent à elles seules la disponibilité en vitroplants pour l'acheteur. Par conséquent, la demande doit s'adapter aux contraintes de la production, ce qui n'est évidemment pas acceptable d'un point de vue commercial.

Conformité des régénérants

Les essais clonaux ont révélé la présence de palmiers variants, avec une fréquence moyenne de 5 %, dans les populations de régénérants (Duval et al., 1995). Ces variants présentent une anomalie du développement floral, initialement appelée « mantled » par Corley et al. (1986). Elle se caractérise par une féminisation des pièces florales mâles chez les fleurs des deux sexes. Deux des verticilles internes sont modifiés, et leur développement conduit à une altération de la morphogenèse des fruits qui montrent alors des carpelles surnuméraires en lieu et place des étamines vestigiales entourant normalement la drupe. Le fruit prend alors un aspect mantelé (ou « mantled » en anglais). La gravité du phénomène est variable ; elle peut n'avoir qu'une faible incidence sur la production d'huile si elle n'empêche pas la nouaison (c'est le cas pour l'anomalie « légère ») mais elle conduit à un avortement partiel ou total dans les cas d'anomalie « grave ». La détection précoce des variants somaclonaux de type « mantled » revêt donc une importance considérable pour le développement commercial du procédé de régénération.

PROGRAMMES DE RECHERCHE EN COURS

Suspensions embryogènes

Des progrès considérables ont récemment été réalisés dans le domaine de la production de plants par embryogenèse somatique, grâce au développement de systèmes basés sur le concept de « semences artificielles » (Redenbaugh, 1993). Le phénomène d'embryogenèse somatique est alors employé pour la production à grande échelle d'embryons individualisés qui présentent un développement relativement synchrone. Le développement des embryons peut être stoppé à un stade donné, soit en suivant la procédure naturelle d'entrée en quiescence (telle qu'on la rencontre chez l 'embryon zygotique), soit en usant de méthodes artificielles, telles que le stockage à basse température. Les embryons somatiques, qui sont le plus souvent encapsulés dans un gel nutritif/antifongique, sont par la suite utilisés comme de semences classiques, et semés in vitro ou directement en sol (Fujii et al., 1992).

Des suspensions embryogènes de palmier à huile ont été obtenues et décrites par plusieurs auteurs (De Touchet et al., 1991 ; Teixeira et al., 1995) dans le but de développer des systèmes de micropropagation à grande échelle qui soient potentiellement automatisables (voir Bajaj, 1991, revue). À ce jour, des suspensions embryogènes ont été isolées pour plus de 20 clones. La concentration en structures embryogènes est de l'ordre de 10^5 par litre, avec un taux de multiplication moyen de 4 par mois de culture. Les caractéristiques de ces suspensions permettent donc d'envisager leur utilisation pour la micropropagation à grande échelle du palmier à huile. D'après Sondahl (1991), la multiplication des suspensions embryogènes en bioréacteur expérimental est possible. Les premiers palmiers produits par suspensions embryogènes sont aujourd'hui en cours d'évaluation au champ en Côte d'Ivoire.

Les plantules issues d'embryons somatiques isolés sont généralement moins vigoureuses que celles issues de la germination de l'embryon zygotique dans la graine. Ce relatif manque de vigueur peut être la conséquence d'une maturation incomplète des embryons somatiques in vitro (Crouch, 1982). Les protéines de réserve de l'embryon zygotique constituent des marqueurs d'intérêt pour l'évaluation du degré de maturité et donc d'aptitude à la dessiccation des embryons somatiques (Redenbaugh et al., 1986). Chez le palmier à huile, nos recherches ont pour but la compréhension des phénomènes régissant l'accumulation des protéines de réserve dans le but de : i) améliorer la vigueur des plants régénérés à partir des suspensions embryogènes précédemment décrites, et ii) pouvoir réaliser une conservation à moyen terme des embryons à température ambiante, sous forme de semences artificielles encapsulées (Mc Kersie et al., 1995) ou par cryoconservation (Engelmann, 1991; Dumet et al., 1993). Les recherches récentes effectuées dans notre groupe (Morcillo et al., 1997) ont démontré que les globulines de type 7S, qui sont les protéines de réserve majeures chez le palmier à huile, peuvent être utilisées comme marqueurs de la maturation chez les embryons zygotiques de palmier à huile.

Par ailleurs, les oligosaccharides ont été également impliqués dans l'acquisition de la tolérance à la dessiccation chez les embryons (Leprince et al., 1993). Ces composés (raffinose et stachyose) jouent un rôle très important dans la création d'un état vitreux du contenu cellulaire au cours de la dessiccation ; ils assurent ainsi la protection de la structure cellulaire contre la cristallisation des solutés. Le rapport [saccharose/(raffinose + stachyose)] peut être donc considéré comme un indicateur fiable de la capacité des embryons à supporter une dessication partielle. Chez les embryons zygotiques de palmier, ce rapport décroît brutalement, de 68 à 14, entre le 3^e et le 4^e mois après fécondation, et il chute jusqu'à 5,2 au 6^e mois (Aberlenc-Bertossi et

al., 1995 ; Chabrillange et al., 1996). Chez les embryons somatiques, la résistance à la dessication a pu être améliorée à l'aide de traitements *in vitro* à l'ABA et au saccharose, appliqués en fin de phase de maturation.

Physiologie du vitroplant

Les pertes subies lors de l'acclimatation des vitroplants ont une influence directe sur les coûts de production, car elles interviennent en fin de procédé, lorsque le plant a déjà acquis une valeur importante. Un programme de recherche visant à connaître le statut physiologique du matériel régénéré et son évolution lors du sevrage a été initié dans notre équipe (Rival *et al.*, 1994, 1996, 1997a,e). Ces travaux ont permis de mettre en évidence une activité photosynthétique se manifestant très précocement au cours du développement *in vitro* du plant. Les pertes au sevrage devaient donc être attribuées plutôt à des problèmes de gestion des cultures (qualité de l'enracinement, degré de développement des plants destinés à l'acclimatation) qu'à la qualité intrinsèque du matériel produit.

Les phénomènes physiologiques contrôlant l'enracinement *in vitro* chez le palmier à huile ont été étudiés (Rival *et al*, 1997b). Le suivi de l'activité péroxydasique totale au cours des phases d'induction/expression a permis de fixer les conditions de culture permettant des taux d'enracinement satisfaisants (85-95%) pour l'ensemble des clones produits.

Conformité génétique

• *Marqueurs biochimiques de l'anomalie « mantled »*

Plusieurs marqueurs biochimiques potentiels destinés à la détection précoce de l'anomalie « mantled » dans les cals ou les vitroplants ont été évalués. Ainsi, nous avons procédé à la recherche de marqueurs protéiques dans les cals de prolifération (Marmey et al., 1991), par analyse des profils électrophorétiques des différents types de cals. En outre, la teneur en régulateurs de croissance endogènes (cytokinines) a été évaluée en relation avec la variation somaclonale (Besse et al., 1992). Cependant, il a été extrêmement difficile de tester la validité de ces marqueurs à grande échelle, en raison soit du manque de répétabilité (dans le cas des marqueurs protéiques), soit du coût très élevé (dans le cas des cytokinines endogènes) des techniques développées.

Plusieurs approches moléculaires sont aujourd'hui suivies pour l'étude de la variation somaclonale chez le palmier à huile. Elles concernent pour partie l'étude de la structure de l'ADN génomique en relation avec l'anomalie florale, à l'aide des techniques de cytométrie en flux et d'analyse RAPD, RFLP et AFLP. L'expression différentielle du génome chez les régénérants normaux et variants est étudiée, en collaboration avec l'Institut de Biotechnologie des Plantes d'Orsay, en suivant une approche ddRT-PCR. Le but de ces travaux est à la fois de comprendre les mécanismes moléculaires régissant les variations somaclonales et, à moyen terme, de mettre à disposition des unités de production un outil de détection précoce, permettant d'éliminer les variants en amont de la plantation.

• *Contrôle du taux de ploïdie*

L'analyse par cytométrie en flux a permis de montrer que les cals embryogènes et les plants (issus de semis ou de micropropagation in vitro) présentaient le même niveau de

ploïdie (Rival et al., 1997c). Trois types de cals embryogènes d'origine foliaire on été analysés : cals nodulaires compacts (régénérant des palmiers normaux à 95 %), cals à croissance rapide (régénérant des palmiers anormaux à 98 %), et cals friables (à l'origine des suspensions embryogènes). Les cals à croissance rapide, à l'origine de palmiers variants, ne présentent pas de différence dans leur niveau de ploïdie. Ces résultats confirment l'hypothèse d'une origine épigénétique de la variation somaclonale chez le palmier à huile.

• *Analyse RAPD*

Les analyses par marqueurs RAPD, effectuées sur l'ADN génomique des régénérants normaux/anormaux, si elle a permis d'identifier un polymorphisme interclonal, n'a cependant pas mis en évidence de différence liée à l'anomalie « mantled » ni au procédé de micropropagation dans son ensemble (Rival et al., 1997d). L'absence de polymorphisme lié à la variation somaclonale après l'examen de près de 8 900 bandes indique une fréquence extrêmement faible de polymorphisme chez les régénérants. Cette fréquence est inférieure aux 0,05 % rapportés par Munthali et al. (1996) au cours de travaux ayant mis en évidence 3 cas de polymorphisme pour 5 607 bandes analysées chez 120 régénérants de betterave. Au cours de notre étude, mettant en jeu plus de 380 amorces arbitraires sur 64 échantillons différents, on peut approximativement estimer à 0,04 % la fraction du génome analysée. On peut dès lors s'interroger sur la capacité de l'approche RAPD à détecter des variations génétiques infimes pouvant se produire au cours des protocoles de régénération.

Méthylation de l'ADN génomique

Le rôle de la méthylation de l'ADN génomique dans la régulation de l'expression du génome (Finnegan et al., 1993) et son implication dans le déterminisme de la variation somaclonale (Brown, 1989 ; Karp, 1991) ont fait l'objet de nombreux travaux. Des modifications significatives du degré de méthylation de l'ADN génomique au cours de la dédifférenciation (Durante et al., 1982) et de l'embryogenèse somatique (Lo Schiavo et al., 1989) ont pu être montrées chez les plantes supérieures. Il est donc possible que des modifications dans le taux ou la répartition de la méthylation de l'ADN génomique puissent être impliquées dans le déterminisme de la variation somaclonale chez le palmier à huile, comme on a pu le montrer chez le maïs (Kaeppler and Phillips, 1994).

Chez le palmier à huile, le taux de méthylation globale a été estimé après l'hydrolyse enzymatique de l'ADN génomique en nucléosides, leur séparation par chromatographie et la quantification de la 5-méthyl-Cytidine en adaptant les méthodes décrites par Palmgren et al. (1990) et Gehrke et al. (1984). Le taux de méthylation globale [(5mdC) / (5mdC+dC)] a été estimé chez les palmiers adultes, dans le but de comparer têtes de clones/régénérants et régénérants normaux/anormaux du même clone. Les taux de méthylation rencontrés sont d'environ 25 %, ce qui correspond au niveau moyen décrit chez d'autres végétaux supérieurs (Klaas & Amasino, 1989). La mesure du taux de méthylation globale n'a pas permis de discriminer les régénérants « mantled » à l'âge adulte. Néanmoins, cette approche sera poursuivie pour des études sur le rôle des régulateurs de croissances (appliqués au cours du protocole de régénération *in vitro*) sur la méthylation globale du génome (Lo Schiavo *et al.*, 1989).

PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Suspensions embryogènes

Les recherches de notre groupe s'intéressent à l'application du concept de « semences artificielles » au palmier à huile, dans le but de réduire les coûts de production et d'améliorer la gestion, la conservation et la diffusion du matériel clonal issu de suspensions embryogènes.

Nos premiers résultats ont montré qu'à l'issue de son développement *in vitro*, l'embryon somatique issu de suspension embryogène ne présente pas les caractéristiques physiologiques de l'embryon zygotique mature. Il importe donc d'approfondir nos connaissances sur les mécanismes d'accumulation des réserves et d'acquisition de la résistance à la dessication au cours du développement in vitro, en prenant l'embryon zygotique dans la graine comme modèle d'étude. Les travaux en cours dans notre équipe portent sur l'apport d'osmoticum (PEG, saccharose) et de régulateurs de croissance (ABA) destinés à améliorer la tolérance des embryons à la dessication. L'impact de ces traitements sur les paramètres tels que la teneur en protéines de réserve (Globuline 7S) et oligosaccharides est en cours. Le rôle de l'apport d'acides aminés majeurs, considérés comme précurseurs potentiels de la biosynthèse de ces protéines, tels que l'arginine ou la glutamine, est en cours d'étude.

Marqueurs moléculaires de l'anomalie « mantled »

Les études sur le polymorphisme de l'ADN génomique en relation avec l'anomalie seront poursuivies en abordant une étude par marqueurs AFLP (Vos et al., 1995), qui sont susceptibles de générer un polymorphisme plus important que les marqueurs RAPD précédemment employés.

Par ailleurs, les observations au champ conduites à la Station IDEFOR-DPO de La Mé (RCI) ont permis de montrer le caractère instable dans le temps de l'anomalie « mantled » (Konan et al., 1996). En effet, près de 50 % des palmiers gravement atteints présentent une réversion vers le phénotype normal après 7 ans au champ. Cette observation constitue un argument supplémentaire en faveur d'un déterminisme épigénétique de l'anomalie florale, susceptible d'affecter l'expression du génome au jeune âge.

Nos études sur la méthylation de l'ADN génomique se poursuivent, en suivant une approche par marqueurs RFLP. Ces études mettent en jeu des enzymes de restriction isoschisomères (MspI/HpaII), couplées à l'emploi de sondes génomiques récemment isolées chez le palmier à huile. Ces enzymes de restriction présentent des sensibilités différentes à la méthylation des dC, et sont donc susceptibles de générer des profils de restriction différents en fonction du taux de méthylation de l'échantillon. Ces données viendront compléter l'approche quantitative du phénomène réalisée par estimation du taux de méthylation globale.

Nous développons depuis peu, en collaboration avec l'IBP (Profs C. Hartmann & A. Rode), une approche nouvelle pour l'étude des variants somaclonaux, basée sur l'analyse différentielle de l'expression du génome chez les régénérants normaux/anormaux. Cette approche est basée sur les récentes techniques mises au point pour l'étude de l'abondance relative de populations spécifiques d'ARNm entre deux populations. Cette méthode, appelée ddRT-PCR (differential display - Reverse Transcript-Polymerase Chain Reaction ; Liang and Pardee, 1992) est employée dans le but de caractériser l'expression des gènes dans des population de cals et d'embryons somatiques générant des plants normaux et anormaux.

CONCLUSION

Le groupe ORSTOM-CIRAD/IDEFOR se situe aujourd'hui au centre d'un réseau de collaborations cohérent, reliant divers partenaires issus de la recherche académique en France (Universités et Instituts de Recherche) aux principaux acteurs de la filière « palmier à huile » dans les pays producteurs (sociétés privées, agences de développement, Instituts de recherche agronomique nationaux). Ce réseau, à l'interface entre recherche et développement, permet de répondre aux attentes immédiates de la filière en développant des approches novatrices, basées sur des outils de recherche modernes.

La mise en place d'un contrôle de qualité fiable à l'aide de marqueurs moléculaires permettra l'évolution de la micropropagation clonale du palmier à huile vers une exploitation commerciale durable. Cette stratégie fera appel à des techniques de micropropagation à hauts rendements de multiplication et à faible coût d'exploitation, telles que l'utilisation à grande échelle des suspensions embryogènes.

Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement Frédérique Richaud et Thierry Beulé (CIRAD-CP), ainsi que l'ensemble du personnel de la Station IDEFOR DPO de La Mé pour l'excellente qualité de leur collaboration.

Bibliographie

1. ABERLENC-BERTOSSI F., MORCILLO F., RIVAL A. and DUVAL Y. (1995), Oligosaccharides and dehydrin-like proteins during oil palm embryo development. In: Fifth International Workshop on Seeds, University of Reading (U.K.), 11-15/09/95, Abstract.
2. BAJAJ YPS. (ed.) (1991), Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol 17. High Tech and Micropropagation I. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
3. BESSE I., VERDEIL. J.-L., DUVAL Y., SOTTA B., MALDINEY R., MIGINIAC E. (1992), Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) clonal fidelity : endogenous cytokinins and indoleacetic acid in embryogenic callus cultures. *J. Exp. Bot.* 43:983-989.
4. BROWN P.T.H. (1989), DNA methylation in plants and its role in tissue culture. *Genome*. 31:717-729.
5. CHABRILLANGE N., ABERLENC-BERTOSSI F., ENGELMANN F. and Y. ÊDUVAL. (1996), Effect of oligosaccharide content during maturation on tolerance to desiccation and cryopreservation of oil palm zygotic embryos. In : Proc. Symposium « Analytical techniques in low temperature biology », University of Abertay, Dundee, Scotland, 3-6 september 1996. Poster.
6. CORLEY R.H.V., BARRETT J.N., JONES L.H. (1977), Vegetative propagation of oil palm *via* tissue culture - *Oil Palm News* 22, p. 2 - 8.
7. CORLEY R.H.V., LEE C.H., LAW L.H., WONG C.Y. (1986), Abnormal flower development in oil palm clones - *Planter*, Kuala Lumpur. 62, p. 233-240.
8. CROUCH M.L. (1982), Non-zygotic embryos of *Brassica napus* L. contain embryo-specific storage proteins. *Planta*, 156:520-524.
9. DUMET D., ENGELMANN F., CHABRILLANGE N., DUVAL Y. (1993), Cryopreservation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) somatic embryos involving a desiccation step. Plant Cell Reports, 12:352-355.

10. DURANTE M., GERI C., and CIOMEI M. (1982), DNA methylation in dedifferenciating plant pith tissue. *Experientia* 38:451-452.
11. DUVAL Y., ENGELMANN F., DURAND-GASSELIN T. (1995), Somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) -In : Somatic embryogenesis and Synthetic Seed I, *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Y.P.S. Bajaj (ed.), Springer Verlag, vol 30:335-352.
12. DUVAL Y., AMBLARD P., RIVAL A., KONAN E., GOGOR S., DURAND-GASSELIN T. (1997), Progress in oil palm tissue culture and clonal performance in Indonesia and the Côte d'Ivoire. *Planters* (Kuala Lumpur) in press.
13. ENGELMANN F. (1991) *In vitro* conservation of tropical plant germplasm - a review *Euphytica*, 57:227-243.
14. FINNEGAN E.J., BRETTELL R.I.S., DENNIS E.S. (1993), The role of DNA methylation in the regulation of plant gene expression. In Jost J.P. and H.P. Saluz (Eds) : *DNA Methylation · Molecular biology and biological significance*, ppÊ218-261.
15. FUJII J., SLADE D., AGUIRRE-RASCON J., REDENBAUGH K.(1992), Field planting of alfalfa artificial seed. *In vitro Cell. Dev. Biol.*, 28P, 73.
16. GEHRKE C.W., Mc CUNE R.A., GAMA-SOSA M., EHRLICH M., KUO K.C (1984), Quantitative reverse-phase high-performance liquid chromatography of major and modified nucleosides in DNA. *J. Chrom.* 301:199-219.
17. KAEPPLER S.M., PHILLIPS R.L. (1994), Tissue culture-induced DNA methylation variation in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:8773-8776.
18. KARP A. (1991), On the current understanding of somaclonal variation In Miflin B J. (ed) *Oxford Surveys of Plant Molecular and Cellular Biology*, vol 7, pp 1-58.
19. KONAN, E.K., DURAND-GASSELIN T., DUVAL Y , KOUAMÉ B. (1996), Anomalie de la morphogenèse florale « anomalie manled » observée chez les plants de Palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq) obtenus par embryogenèse somatique. Étude de la réversion vers un phénotype normal des plants non conformes. Séminaire Biotechnologies Végétales, AUPELF, Dakar. 1996.
20. KLAAS M., AMASINO R.M. (1989). DNA methylation is reduced in Dnase-I sensitive regions of plant chromatin. *Plant Physiol.* 91:451-454.
21. LEPRINCE O., HENDRY G.A.F., Mc KERSIE B.D. (1993), The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research*, 3:231-246.
22. LIANG P., PARDEE A.B. (1992), Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science*, 257:967-971.
23. LOSCHIAVO F., PITTO L., GIULANOG., TORTI G., NUTI-RONCHI V., MARAZZITI D., VERGARA R., ORSELLI S., TERZI M. (1989), DNA methylation of embryogenic carrot cell cultures and its variations as caused by mutation, differentiation, hormones and hypomethylating drugs. *Theor. Appl. Genet.*, 77:325-331.
24. MARMEY Ph., BESSE I., VERDEIL J.L. (1991), Mise en évidence d'un marqueur protéique différenciant deux types de cals issus de même clones chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq). *C. R. Acad. Sci.* Paris, t 313, sérieÊIII:333-338.
25. Mc KERSIE B.D., VAN ACKER S., LAI F.M. (1995), Role of maturation and dessication of somatic embryos in the production of dry artificial seeds. In : Bajaj YPS (ed) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 30, Somatic Embryogenesis, Springer-Verlag, Berlin, pp 152-167.
26. MEUNIER J., Baudouin L., NOUY B., NOIRET J.-M. (1988), Estimation de la valeur des clones de palmier à huile. *Oléagineux*, 46(10):347-359.
27. MORCILLO F., BERTOSSI-ABERLENC F., TROUSLOT P., DUVAL Y. (1997), Characterization of 2S and 7S storage proteins in embryos of oil palm. *Plant Science*, 122:141-151.
28. MUNTHALI M.T., NEWBURY H.J.,FORD-LLOYD B.V. (1996), The detection of somaclonal variants of beet using RAPD. *Plant Cell Rep.* 15:474-478.
29. PALMGREN G., MATTSSON O., OKKELS F.T. (1990). Employment of hydrolytic enzymes in the study of the level of DNA methylation. *Biochim. Biophys. Acta* 1049:293-297.
30. PANNETIER C., ARTHUIS P. LIEVOUX D. (1981), Néoformation de jeunes plantes *d'Elaeis guineensis* à partir de cals primaires obtenus sur fragments foliaires cultivés *in vitro*. *Oléagineux* 36:119-122.
31. PARANJOTHY K. (1984), Oil Palm. In : Handbook of Plant Cell Culture, vol 3 : *Crop Species*, P.V. Ammirato, D.E. Evans, W.R. Sharp, Y Yamada (Eds). Macmillan, New York, 591-605.
32. REDENBAUGH K. (1993), Introduction. *In* : *Synseeds* : Applications of Synthetic Seeds to Crop Improvement. K. Redenbaugh (ed), CRC Press, London. pp : 3-7.
33. REDENBAUGH K ., PAASCH B.D., NICHOL J .W., KOSSLER M.E., VISS P .R., WALKER K.A. (1986). Somatic seeds : encapsulation of asexual plant embryos, *Bio/tech.*, 4:797-781.

34. RIVAL A., NATO A., LAVERGNE D., DUVAL Y. (1994), Carboxylases (PEPc and RUBISCO) activities during *in vitro* development and acclimatization of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). In : Proc. VIIIth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, *IAPTC*, Firenze, Abstract n°S20-13, p.261.
35. RIVAL A., BEULE T., NATO A., LAVERGNE D. (1996), Immunoenzymatic study of RubisCO in oil palm and coconut. *Plantations, Research, Development*, 3(6):55-61.
36. RIVAL A., BEULE T., LAVERGNE D., NATO A., HAVAUX M, PUARD M. (1997a), Development of photosynthetic characteristics in oil palm during *in vitro* micropropagation. *J. Plant Physiol.*, 150(5):11-26.
37. RIVAL A., BERNARD F., MATHIEU Y. (1997b), Changes in peroxidase activity during *in vitro* rooting of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) clonal plantlets. *Scientia Horticulturae*, 71:103-112.
38. RIVAL A., BEULE T., BARRE P., DUVAL Y., HAMON S., NOIROT M. (1997c), Comparative flow cytometric estimation of nuclear DNA content in embryogenic calli and seed-derived oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *Plant Cell Rep.*, 16:884-887.
39. RIVAL A., BERTRAND L., BEULE T., TROUSLOT P., LASHERMES P. (1998), Suitability of RAPD analysis for the detection of somaclonal variants in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *Plant Breeding* 117(1):73-76.
40. RIVAL A., BEULE T., LAVERGNE D., NATO A. (1997e.), Growth and carboxylase activities in *in vitro* micropropagated oil palm plantlets during acclimatization : comparison with conventionally germinated seedlings. *Advances in Hort. Sci* (sous presse).
41. SOH A.C. (1986). Expected yield increase with selected palm clones from current D x P seedlings materials and its implications on clonal propagation, breeding and ortet selection. *Oléagineux*, 41, 2:51-56.
42. SONDAHL M. (1991), Tissue culture of cacao, coffee and oil palm. In : Proceedings of the fourth conference Int. Plant Biotechnology Network San José, Costa Rica, 14-18 Janvier 1991. p. 98 - 99.
43. TEIXEIRA J.B., SONDAHL M.R., KIRBY E.G. (1990), Establishment of embryogenic cell suspensions of oil palm and regeneration. In : VIIth International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, Abstracts. Amsterdam, June 24-29. p. 137.
44. TOUCHET (de) B., DUVAL Y., PANNETIER C. (1991), Plant regeneration from embryogenic suspension culture of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *Plant Cell Rep.* 10:529-532.
45. VERDEIL J.-L., BUFFARD-MOREL J. (1995), Somatic embryogenesis in coconut (*Cocos nucifera* L.). In : *Somatic embryogenesis and Synthetic Seed I*, Biotechnology in Agriculture and Forestry, Y.P.S. Bajaj (ed), Springer-Verlag, vol. 30:299-317.
46. VOS P., HOGERS R., BLEEKER M., REIJANS M., VAN DE LEE T., HORNES ÊM., FIJTERS A., POT J., PELEMAN J., KUIPER M., ZABEAU M. (1995). AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23 : 4407-4414.

A10 : Collaboration internationale pour la maîtrise de la multiplication végétative *in vitro* du Cocotier (*Cocos nucifera* L).

HOCHER V.[1*], VERDEIL J.-L.[1], GROSDEMANGE F.[1], HUET C.[1], BOURDEIX R.[2], N'CHO Y.P.[2], SANGARE A.[2], HORNUNG R.[3], JACOBSEN H.J.[4], RILLO E.[5], OROPEZA C.[6], HAMON S.[1]

* Auteur pour correspondance

[1] ORSTOM/CIRAD-CP - Laboratoire des Ressources Génétiques et d'Amélioration des Plantes Tropicales. BP 5045, 34032 Montpellier Cedex 01, FRANCE;

e-mail : hocher@orstom.mpl.fr

[2] IDEFOR/DPO - Station Marc Delorme, Port Bouët. 07BP13, Abidjan 07. CÔTE D'IVOIRE.

[3] Université de Londres, Wye College, Wye, Ashford, TN25 5AH, ROYAUME-UNI.

[4] Université de Hanovre, Herrenhausser str; 2, Hannover D-3000, ALLEMAGNE.

[5] PCA. Albay Research Center, Banao, 4503 Guinobatan, Albay, PHILIPPINES.

[6] CICY 7 Antigua carretera A Progreso, Ex-Hacienda Xcumpich, 97310 Cordemex, Merida, MEXIQUE.

PRÉSENTATION DE LA PLANTE

Dans la zone intertropicale humide, où il est largement réparti, le cocotier est souvent surnommé « Arbre aux cent usages » ou « Arbre de vie ». Si toutes les parties de la plante peuvent être valorisées par l'homme en fournissant des éléments essentiels à sa vie (nourriture, boisson, habitat), le cocotier demeure avant tout une plante oléagineuse, dont l'huile est extraite du coprah (albumen déshydraté). Le cocotier s'insère parfaitement dans une économie villageoise en assurant un revenu régulier à des millions de petits producteurs. On estime en effet que la moitié de la production mondiale (environ 9,5 millions de tonnes en 1995, estimée en équivalent coprah) (Rapport Annuel CIRAD, 1995) est consommée localement (Bourdeix, 1989). Le cocotier a également une vocation de plante de grande culture. Son huile, riche en acide laurique est très recherchée par l'industrie des cosmétiques, elle n'est alors en concurrence qu'avec l'huile de palmiste. Jusque dans les années 50, le cocotier occupait la première place parmi les plantes oléagineuses; aujourd'hui il n'arrive qu'au septième rang mondial. On observe un déclin important de la productivité, lié au vieillissement des plantations. Il ne pourra être enrayé que grâce à des programmes de replantation, ce qui nécessite de disposer d'un matériel végétal très productif. Des schémas de sélection ont donc été mis en place dans différents pays producteurs (Côte d'Ivoire, Philippines, Sri Lanka, Inde, ...) et des hybrides ayant un potentiel de production double de celui des variétés traditionnelles ont été obtenus (Bourdeix, 1989). Cependant la sélection classique se heurte à un certain nombre de contraintes liées à la biologie particulière de cette plante : une forte hétérozygotie, un faible coefficient de multiplication, un cycle de sélection long et une graine récalcitrante ayant un volume important, ce qui rend difficile la conservation et la diffusion du matériel. De plus, le cocotier ne présente pas de multiplication végétative naturelle.

LE CHOIX DE L'EMBRYOGENÈSE SOMATIQUE

Le cocotier n'est actuellement propagé que par voie sexuée. Les seuls espoirs de multiplication végétative reposent sur les techniques de culture *in vitro*. La présence d'un seul bourgeon végétatif assurant la croissance de l'appareil aérien et la nécessité de maintenir la plante mère au champ éliminent toute possibilité de micropropagation par culture du méristème végétatif. La réversion de méristèmes floraux vers un fonctionnement végétatif (Blake et Eeuwens, 1978 ; Davis, 1969) et la néoformation de méristèmes caulinaires par culture de fragments d'organes (Balaga, 1975) ont été envisagées ; elles sont abandonnées aujourd'hui en raison du peu de résultats obtenus.

Les différentes équipes qui travaillent sur le clonage du cocotier concentrent actuellement leur efforts sur l'embryogenèse somatique. La mise au point d'une telle méthode de propagation permettrait d'obtenir un matériel homogène par clonage d'individus hautement performants, ce qui conduirait à une amélioration sensible de la productivité et de l'homogénéité des plantations. Une valorisation plus rapide des résultats de la sélection serait obtenue avec la diffusion rapide de clones dans des programmes d'amélioration. En outre, cette méthode permettrait un clonage et donc une diffusion rapide et large d'individus sélectionnés pour leur résistance aux maladies et/ou à des conditions climatiques difficiles telle que la sécheresse.

POURQUOI UNE ASSOCIATION ?

Les premiers résultats sur l'embryogenèse somatique furent prometteurs, avec l'obtention dès 1982 de formation de type embryon (Pannetier et Buffard-Morel, 1982). Entre 1985 et 1990, plusieurs équipes ont pu obtenir la régénération de plantules à partir de tissus somatiques (Raju et al., 1984 ; Branton et Blake, 1984 ; Buffard-Morel et al., 1988), mais seul un nombre réduit de vitroplants fut obtenu et ce de manière erratique. L'embryogenèse somatique du cocotier demeure mal maîtrisée. En effet, si la famille des Arécacées est considérée comme peu réactive *in vitro* (elle cumulerait d'après Kovoor (1981), la difficulté de régénération des Monocotylédones et celle des plantes ligneuses), le cocotier est certainement le palmier le plus récalcitrant *in vitro* (Rillo, 1989). En outre, la compétition entre les différentes équipes, motivée par l'obtention des premiers plants régénérés, a longtemps constitué un obstacle à la diffusion des connaissances sur le comportement *in vitro* des tissus de cocotier. La prise de conscience de cette lacune majeure (Blake, 1990 ; Dublin *et al.*, 1991) a récemment conduit plusieurs laboratoires à envisager une association qui pourrait permettre de répondre à un tel défi.

VERS UNE COLLABORATION INTERNATIONALE

Trois équipes européennes, Wye College (Royaume Uni), l'Université de Hanovre (Allemagne) et l'ORSTOM/CIRAD-CP (France) en association avec trois partenaires du Sud, l'IDEFOR/DPO (Côte d'Ivoire), le PCA (Philippines) et le CICY (Mexique) ont proposé une collaboration. Ensemble, ils ont identifié les problèmes majeurs rencontrés en culture *in vitro* du cocotier et un programme de recherche a été soumis à la Communauté Européenne qui en a accepté le financement. Ce projet STD3 (Sciences et Technologies du Vivant pour les Pays en Développement) N°ERBTS3*CT940298 intitulé « Coconut : development of methods for the clonal propagation of élite, disease resistant palms by somatic embryogenesis » a débuté en 1995 pour 3 ans.

ASSOCIATION STD3 : STRATÉGIE DE RECHERCHE

La gestion de ce type de programme est bien réglementée par la CE, qui s'assure d'un bon fonctionnement au travers d'un des instituts participants désigné comme coordinateur du projet (ici, l'ORSTOM). Le rôle du coordinateur est multiple : il assure le lien entre les partenaires du projet et la CE, au travers des Rapports d'Activités (bisannuels), qu'il est chargé de collecter et de diffuser, et des Comptes Rendus qui suivent les réunions annuelles des partenaires ; il assure aussi le bon déroulement du projet ainsi que sa gestion financière. Il faut également signaler que chaque partenaire bénéficie d'une protection juridique grâce à un Contrat de Consortium, qui a été établi dès le début du projet (S. Hamon et J.-L. Verdeil, comm. pers.).

Lors de la première réunion STD3 (Montpellier, mars 1995), les différents partenaires ont présenté chacun un bilan de leurs travaux et ont défini clairement les difficultés rencontrées communément en culture *in vitro* du cocotier.

Parmi les difficultés majeures identifiées on peut citer :

- un brunissement intense des tissus maintenus *in vitro* ;
- une forte hétérogénéité dans le comportement de ces tissus ;
- un temps de réponse *in vitro* extrêmement long ;
- la difficulté d'obtention d'embryons somatiques capables de germer ;
- la faible vigueur des vitroplants.

L'identification de ces problèmes a ensuite permis aux partenaires d'élaborer de façon précise un programme de recherche pour chaque équipe. Un des points essentiels a été de planifier des échanges importants aussi bien en matière d'information que de compétence. Ainsi la création d'une « Coconut Newsletter » permet la diffusion d'idées et d'informations diverses (en dehors des réunions annuelles) et l'organisation de stages de formation dans chaque laboratoire a permis d'échanger et de comparer techniques et protocoles de culture, base essentielle d'une collaboration fructueuse.

PRINCIPAUX RÉSULTATS OBTENUS DANS LE CADRE DU PROGRAMME STD3

Amélioration du protocole de régénération

• *Culture* in vitro

Le procédé de culture *in vitro* développé par les différentes équipes comporte quatre phases : callogenèse, induction de l'embryogenèse, maturation et germination des embryons. Un des enjeux de ce projet était d'améliorer de façon sensible les pourcentages de callogenèse, d'embryogenèse et d'obtention d'embryons complets capables de germer. À cet effet, les nombreux échanges et notamment la publication interne au STD3 d'une « Compilation des Protocoles » a permis de tester en parallèle les protocoles des différentes équipes. Cette comparaison a permis l'identification des facteurs clés de la culture *in vitro* du cocotier pour chacune des étapes du protocole de régénération. L'utilisation d'explants immatures (feuilles, inflorescences ou tissus embryonnaires), formés en partie de cellules méristématiques indifférenciées, est essentielle, comme chez la plupart des Monocotylédones pour l'obtention de cals. Le second facteur qui conditionne le succès de la callogenèse est la présence d'un régulateur de croissance à forte activité auxinique : le 2,4-D en association avec le charbon actif. L'acquisition par les cals de la compétence à l'embryogenèse est dépendante du niveau de 2,4-D en présence de charbon actif. La maturation des

embryons somatiques est obtenue en réduisant progressivement la concentration en 2,4-D et par l'addition d'une cytokinine (2iP, TDZ ou BAP) qui est indispensable à la différenciation du méristème caulinaire au sein de l'axe embryonnaire. Enfin, les facteurs essentiels à la germination sont la suppression du 2,4-D et la présence de BAP.

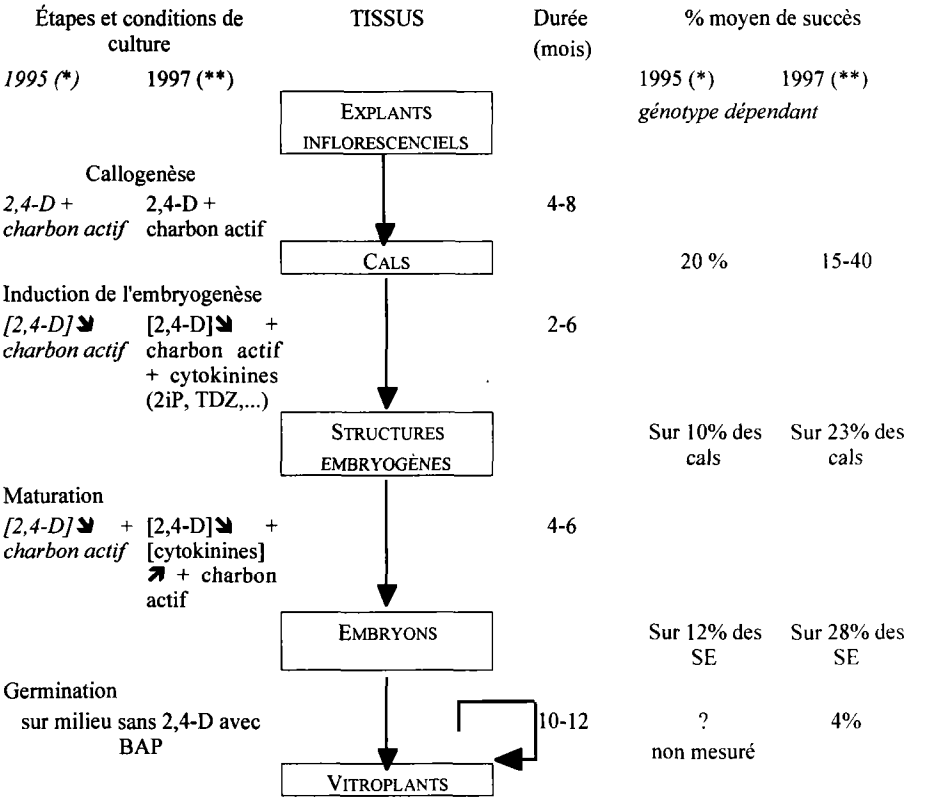
Grâce à la comparaison des différents protocoles, l'équipe ORSTOM/CIRAD-CP a sensiblement amélioré le protocole de régénération à partir d'inflorescences immatures (figure 1). Ainsi on peut remarquer que les pourcentages moyens de callogenèse, d'induction de l'embryogenèse et de maturation ont augmenté par rapport à ceux obtenus en 1995 (avant le début de la collaboration). Ce constat a été fait (avec des % comparables) chez nos autres partenaires et en particulier aux Philippines, où le PCA a su rapidement tirer parti de cette collaboration, puisque des vitroplants viennent d'être obtenus après maturation et germination des embryons en présence de cytokinines (BAP), ce qui valide en retour une des avancées du protocole mis au point à Montpellier (Verdeil et al., 1996b).

Un protocole de régénération à partir de plumule (méristème caulinaire de l'embryon zygotique entouré des ébauches foliaires) est actuellement en test sur la base des échanges avec l'équipe de Wye (Hornung, 1995). L'avantage est la rapidité de réaction du matériel (2 mois au lieu de 8 pour la phase de callogenèse) et l'homogénéité de cette réaction (90 % de callogenèse en moyenne). Ce procédé permettrait de pouvoir travailler rapidement les phases tardives (fin de maturation et germination) qui sont les limites actuelles du protocole. Le CICY et le PCA ont aussi développé cette approche.

• *Analyses phytohormonales*

Un des problèmes majeurs rencontrés en culture *in vitro* du cocotier est le brunissement intense des tissus dû à la production de polyphénols. Ce problème a été résolu de façon identique par les différentes équipes : l'ajout au milieu de culture de charbon actif permet de piéger ces polyphénols. Cependant, ce composé est aussi capable d'adsorber certains composés du milieu de culture, dont les hormones exogènes (2,4-D, BAP), ce qui rend difficile la maîtrise de la composition des milieux. Entre 1990 et 1993, l'équipe ORSTOM/CIRAD-CP a développé une méthode de dosage des hormones de type auxines et cytokinines par HPLC dans les milieux de culture (Verdeil, 1993). Les résultats ont révélé des taux d'adsorption importants et l'application de ces techniques sur des milieux provenant des différentes équipes a démontré un comportement variable selon les lots et la provenance des charbons actifs utilisés (tableau 1). Un contrôle fréquent des milieux permet donc actuellement un réajustement des teneurs en hormones. Dans le cadre d'échanges, d'autres équipes (PCA et CICY) ont pu bénéficier de cette approche. En parallèle, les équipes du CICY et de Wye College ont développé une technique par radiomarquage (utilisation de 2,4-D radioactif) (Ebert et Taylor, 1990 ; Oropeza et Taylor, 1994) pour suivre l'incorporation de cette molécule dans les cultures et essayer d'en caractériser le métabolisme.

Figure 1 : Schéma du protocole de régénération du cocotier mis au point par l'équipe mixte ORSTOM/CIRAD, à partir de tissus inflorescenciels.



(*) Pourcentages évalués à partir des 6 derniers arbres mis en culture (Mai 1993-Février 1994).

(**) Pourcentages évalués à partir des 6 derniers arbres mis en culture (Mai 1994-Février 1995)

Tableau 1 : Quantification* du 2,4-D libre par HPLC en présence de différents types de charbons actifs. La quantité initiale de 2,4-D ajoutée dans les milieux était de 22 mg/l. Les valeurs indiquées donnent la valeur mesurée la plus forte et la plus faible.**

	Teneurs en 2,4-D libre (mg/l) en présence de 2 g/l de charbon provenant de...					
Âge du milieu de culture	Mexico		Acidic Washed Sigma		Neutralized Sigma	
4 jours	3.05	0.42	0.12	0.02	0.09	0.02
8 jours	1.36	0.28	0.08	0.02	0.03	0.02

** 5 tubes différents on été utilisés pour les quantifications* *** non adsorbé par le charbon*

• *Histologie*

La lenteur des phénomènes en culture *in vitro* du cocotier a conduit au développement d'une approche histologique. Ainsi chaque étape du protocole a pu être décrite (Buffard-Morel et al., 1992 ; Verdeil, 1994). Les études réalisées à Montpellier ont permis de décrire et de caractériser les cellules embryogènes à l'origine des proembryons. Deux voies d'embryogenèse ont été mises en évidence (Verdeil et al., 1994) :

- Une voie pluricellulaire : En présence de faibles teneurs en 2,4-D (40 à 60 mg.l^{-1}), on observe la formation de structures complexes méristématiques et épidermisées. Cette voie peut conduire à l'obtention de structures embryonnaires souvent incomplètes ou déviées (haustorium seul présent avec ou sans pôle racinaire, embryons de type foliacé) si la concentration en auxine n'est pas suffisante.
- Une voie unicellulaire : Cette seconde voie est obtenue avec une forte concentration en 2,4-D (80 à 120 mg.l^{-1}). Elle conduit alors à l'apparition et à l'individualisation de cellules embryogènes se caractérisant par un cytoplasme dense, un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, la présence d'un nucléole unique et volumineux et la présence de réserves amylacées et protéiques. Elles s'individualisent du reste du cal par un épaississement de la paroi cellulaire.

De par leur structure et leur ultrastructure, les cellules embryogènes présentent de nombreuses convergences avec les cellules engagées dans la voie de l'embryogenèse sexuée. C'est ainsi qu'un dépôt de callose lors de l'individualisation des cellules embryogènes a pu être mis en évidence (J.-L. Verdeil, comm. pers.). Nous disposons donc actuellement de repères précis pour la caractérisation de l'évolution des cultures. Nous avons appliqué cette technique à du matériel provenant des différents laboratoires (Hanovre, PCA et CICY), et il est important de constater que quel que soit le type d'explant de départ et quel que soit le mode d'obtention des structures embryogènes, le même processus est observé.

Essais de régénération à partir d'une grande diversité de cultivars

Depuis plus de 20 ans, l'équipe ORSTOM/CIRAD-CP est associée avec la station Marc Delorme-IDEFOR, Côte d'Ivoire, sur le programme d'amélioration du cocotier. Cette station possède la collection au champ la plus importante au monde. Elle réunit, depuis sa création en 1952, 37 écotypes représentés chacun par plus de 70 individus. Cette étroite collaboration nous a permis d'identifier très tôt les besoins des sélectionneurs en matière de micropropagation. Du fait des programmes de sélection mis en place très tôt dans cette station, nous avons ainsi pu tester en culture *in vitro* du matériel hautement sélectionné. Nous travaillons notamment sur trois génotypes : deux hybrides, le PB121 et le PB111 et un Nain Jaune Malais. Le maintien des relations avec la station Marc Delorme est essentiel pour la poursuite de nos travaux pour tester les performances du protocole actuel à une échelle plus large. L'exemple du palmier à huile montre en effet que la production de vitroplants a progressé de façon sensible grâce à l'ouverture en 1981, de l'unité pilote de La Mé, Côte d'Ivoire (mise en culture d'un arbre tous les 10 jours sur au moins trois ans). Ce type d'infrastructure qui a permis, par des ajustements successifs du protocole mis au point en laboratoire, de faire progresser la production de vitroplants, manque aujourd'hui au cocotier. L'entrée dans le STD3 a permis de tester d'autres génotypes provenant d'Amérique Centrale et d'Asie du Sud-Est. Cela permet de valider le protocole. Un point important pour la vitroculture a été la rédaction par les sélectionneurs des trois pays producteurs d'une « Liste des Génotypes Utiles » identifiant précisément les génotypes les mieux adaptés à chaque pays. Ce document sert actuellement de base pour les essais de régénération.

Recherche de marqueurs précoces de l'embryogenèse (marqueurs protéiques)

Les phénomènes de régénération sont très lents chez le cocotier et la recherche de marqueurs précoces permettrait de détecter les premiers signes de l'orientation vers l'embryogenèse somatique, ce qui faciliterait le pilotage des cultures. Une perspective

intéressante est la recherche de marqueurs protéiques et moléculaires. Dans le cadre du projet STD3, cette approche est développée par l'équipe allemande, qui possède la technologie nécessaire à ce type d'approche. Les travaux sont actuellement en cours avec notamment l'utilisation d'anticorps spécifiques de marqueurs du processus d'induction de l'embryogenèse et de la division cellulaire. (Altherr et al. 1993, Paulus et al, 1993). Par ailleurs des résultats intéressants ont été obtenus par l'équipe du CICY sur la recherche de protéines phosphorylées au cours du développement embryonnaire. L'état de phosphorylation de certaines protéines pourrait varier au cours de l'embryogenèse et ainsi être utilisé comme marqueur des différents stades d'embryogenèse du cocotier.

Étude de la physiologie du vitroplant de cocotier

Au cours de la troisième réunion STD3 (Mai 1997, Hanovre), les différents partenaires ont confirmé que des études de la physiologie du vitroplant, issu de la germination des embryons somatiques, étaient nécessaires en raison des problèmes posés par leur croissance lente *in vitro* et leur acclimatation difficile aux conditions naturelles. Ces problèmes constituent actuellement le principal facteur limitant pour le développement des protocoles d'embryogenèse somatique. Ces difficultés sont aussi rencontrées en culture *in vitro* des embryons zygotiques de cocotier chez lesquels un développement très lent a aussi été observé (par référence à des plantules issues de semis). Dans la majorité des espèces végétales, la réussite de l'acclimatation et par conséquent le développement ultérieur des vitroplants, sont liés à la capacité du plant à photosynthétiser *in vitro* (Debergh, 1991). L'équipe ORSTOM/CIRAD-CP s'est intéressée aux mécanismes de mise en place de la photosynthèse *in vitro* et d'accès à la photo-autotrophie carbonée chez les vitroplants zygotiques de cocotier, qui constitue un modèle de choix pour des études physiologiques applicables directement aux protocoles d'embryogenèse somatique. Cette étude a mis en jeu diverses approches complémentaires : dosages et quantification des carboxylases, mesures *in situ* des échanges gazeux et de la transpiration, fluorescence des chlorophylles. L'ensemble de ces résultats suggère la mise en place précoce d'un métabolisme photosynthétique actif dans les plantules obtenues à partir de cultures *in vitro* d'embryons zygotiques chez le cocotier (Triques et al., 1997a et b), mais n'explique pas la lenteur du développement. L'observation des plantules issues de semis nous a permis de suggérer que le développement lent des plantules issues d'*in vitro* (zygotique et /ou somatique) pourrait être dû à une nutrition insuffisante et/ou mal adaptée. En effet, au cours de la germination de l'embryon zygotique de cocotier sur la noix, l'haustorium (partie distale du cotylédon) se développe de façon extraordinaire : il envahit peu à peu toute la cavité de la noix et assure l'assimilation (grâce à la sécrétion de diverses enzymes) des réserves et leur transfert à la plantule. Le dosage des principaux nutriments organiques (sucres simples, acides aminés, acides gras) transmis à la plantule apportera des informations essentielles à la compréhension de la physiologie de la germination de la graine de cocotier. Il permettra d'améliorer les milieux de culture et donc à terme d'optimiser la germination et le développement des plantules (zygotiques et somatiques), limite actuelle du protocole. En parallèle, des expérimentations au champ seront menées aux Philippines pour déterminer le stade exact où la plantule zygotique peut vivre sans la noix.

CONCLUSION

Après avoir analysé les résultats obtenus sur la micropropagation de plus de 1 000 espèces, George et Sherrington (1984) n'hésitaient pas à affirmer que le cocotier

faisait partie avec le cotonnier et le soja, de l'une des trois plantes les plus difficiles à régénérer et à propager *in vitro*. Ce constat est toujours valable même si aujourd'hui, grâce à ces trois années de collaboration, nous maîtrisons mieux la culture *in vitro* de cette espèce. En effet, cette association s'avère essentielle : elle a, d'une part, permis de constater que les problèmes rencontrés en culture *in vitro* du cocotier présentaient de nombreuses similitudes dans tous les laboratoires et, d'autre part, elle a su au travers d'échanges multiples (courrier, visites, réunions, stages....) mettre en commun toutes les « données » accumulées par chacun sur la culture *in vitro* du cocotier. Ce sont ces échanges qui ont permis d'avancer de façon sensible dans la connaissance des phénomènes menant à l'obtention d'embryons somatiques chez cette espèce particulièrement récalcitrante. Nous avons pu lever certaines des difficultés : maîtrise des phases de callogenèse, d'induction de l'embryogenèse, obtention régulière d'embryons complets. Toutefois, nous restons prudents car d'autres obstacles demeurent, en particulier la phase de germination, et la régénération du cocotier par embryogenèse somatique est loin d'être un pari gagné. Néanmoins la réussite de ce projet fait clairement apparaître les bénéfices de telles associations et l'importance des organismes tel que la CE pour leur financement. Dans le cadre de ce projet cocotier, nous envisageons de poursuivre l'association avec nos partenaires. Il semble évident que les recherches visant à maîtriser la micropropagation du cocotier doivent être poursuivies et que comme le soulignent Kullaya et Sangaré (1996), seul le regroupement des efforts de recherche-développement nationaux, régionaux et internationaux assurera un meilleur avenir aux petits planteurs du XXI^{e} siècle.

Bibliographie

1. ALTHERR S. STIRN S. et JACOBSEN H.J. (1993) Immunochemical analysis of nuclear protein marker for regeneration potential in higher plants *J. Plant Physiol.* 141: 415-422
2. BALAGA H.Y. (1975) - Induction of branching in coconut, *Kalikasan Philip. J. Biol.* 4 135-140.
3. BLAKE J. (1990) - Coconut (cocos nucifera L.) micropropagation. *Dans*: Biotechnology in Agriculture and forestry, vol 10, legumes and Oil Seed Crops, BAJAJ Y.P.S ed., 538-554
4. BLAKE J. et EEUWENS C.J. (1978) - Inflorescence tissue as source material for vegetative propagation of coconut palm. *Dans* : Proc. Intern.Conf. Cocoa/Coconuts, Kuala Lumpur. 549-556.
5. BOURDEIX R. (1989) - La sélection du cocotier (*Cocos nucifera* L.) Etude Théorique et Pratique Optimisation des Stratégies d'Amélioration Génétique. *Thèse d'Université* Paris XI Orsay, 194 p.
6. BRANTON R.L. et BLAKE J. (1984) - Clonal propogation of coconut palm - *Dans*: Proc. Int. Conf. Cocoa Coconuts, N° 46, p. 1 - 9.
7. BUFFARD-MOREL J., VERDEIL J.L. et PANNETIER C. (1988) - Vegetative propagation of coconut palm through somatic embryogenesis, obtention of plantlet from leaf explant. 8th Intl. Symp. Biotechnology, Paris. Abstract p117.
8. BUFFARD-MOREL J., VERDEIL J.L. et PANNETIER C. (1992) - Embryogenèse somatique du cocotier (*Cocos nucifera* L.) à partir de tissus foliaires : étude histologique. *Can. J. Bot.* 70 735-741.
9. DAVIS T.A. (1969) - Prospects of clonal propagation of the coconut. *Ceylan Coconut Planters' Review* Vol. VI, 1.
10. DEBERGH P.C. (1991) - Acclimatization techniques of plants from *in vitro*. *Acta Hort.* 289: 291-300.

11. DUBLIN P., ENJALRIC F., LARDET L., CARRON M.P., TROLINDER N. et PANNETIER C. (1991) - Estate crops - *Dans* : Micropropagation Technology and Application. P.C. Debergh and R.H. Zimmerman (Eds), Kluwer Academic Publisher Dordrecht. p 337 - 361.
12. EBERT A, et TAYLOR H.F. (1990) - Assessment of the changes of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 20: 165 - 172.
13. GEORGE E.F. et SHERRINGTON P.D. (1984) - (Eds). *Dans* : Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook of Directory and Commercial Laboratories. Exegetics Eversley Ltd., 709 p.
14. HORNUNG R. (1995) - Micropropagation of *Cocos nucifera* L. from plumular tissues exised from mature zygotic embryos. *Plantation, Recherche, Développement* 212 : 38-41.
15. KOVOOR A. (1981) - Palm tissue culture: state of the art and its application to the coconut. FAO Plant Production and Protaction Paper 30 FAO Rome.
16. KULLAYA A . et SANGARÉ A. (1996) - La filière cocotier en Afrique : situation actuelle et perspectives. OCL (3) **2** :130-135 ;
17. OROPEZA C. et TAYLOR H.F. (1994) - uptake of 2,4-D in coconut (cocos nucifera L.) explants. *Dans* : Physiology, Growth and Development of Plants in Culture. Lumsden PJ, Nicholas JR et davies WJ eds. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands pp284-288.
18. PANNETIER C. et BUFFARD-MOREL J. (1982) - Premiers résultats concernant la production d'embryons somatiques à partir de tissus foliaires de cocotier, *Cocos nucifera*. *Oléagineux*, 37: 349-354.
19. PAULUS C., KÖLLNER B. et JACOBSEN H.J. (1993) - Physiological and biochemical characterisation of glyoxalase-I from soybean cell suspension, a general marker for cell proliferation. *Planta* 189 : 561-566
20. RAJU C.R., PRAKASH KUMAR P., CHANDRAMOHAN M. et IYER R.D. (1984) - Coconut plantlets from leaf tissue cultures - *Plantation Crops* 12: 75-81.
21. Rapport Annuel CIRAD (1995) - Département des cultures pérennes 55-80
22. RILLO E.P. (1989)a - A frame-work for co-ordination of application of tissue cultures techniques for a break through in vegetative propagation of coconut. COCOTECH, XXVIème Meeting, Bangkok, Thaïland.
23. TRIQUES K., RIVAL A., BEULÉ T., PUARD M., ROY J., NATO A., LAVERGNE D., HAVAUX M., VERDEIL J.L., SANGARE S. et HAMON S. (1997)a - Photosynthetic ability of *in vitro* grown coconut (*Cocos nucifera* L.) plantlets derived from zygotic embryos. *Plant Science* 127 39-5.
24. TRIQUES K., RIVAL A., BEULÉ T., DUSSERT S., HOCHER V., VERDEIL J.L. & HAMON S. (1997)b Developmental changes in carboxylase activities in *in vitro* cultured coconut zygotic embryos: comparison with corresponding activities in seedlings. *Plant Cell Tissue Org. Cult*. 49:227-231.
25. VERDEIL J-L, HOCHER V., HUET C., GROSDEMANGE F., SANGARE A., & HAMON S , (1996)b, Effect of thidiazuron and 2,4-D on the maturation of coconut (*Cocos nucifera* L.) somatic embryos. 12-14 septembre 1996. Plant Embryogenesis Workshop Abstract SVI-28.
26. VERDEIL J.L. (1993) - Etude de la régénération du cocotier (*Cocos nucifera* L.) par embryogenèse somatique à partir d'explants inflorescentiels. Thèse de Doctorat de l'Université P. et M. Curie (Paris VI). Soutenue le 15 décembre 1993. 156p.
27. VERDEIL J.L., HUET C., GROSDEMANGE F. et BUFFARD-MOREL J. (1994) - Plant regeneration from cultured immature inflorescences of coconut (*Cocos nucifera* L.): evidence for somatic embryogenesis. *Plant Cell Reports* 13:218-221.

A11 : Le réseau *Atriplex* ou comment allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions semi-arides et arides

KINET J.-M.[1], BENREBIHA F.[2], BOUZID S.[3], LAILHACAR S.[4], DUTUIT P.[5]

[1] Laboratoire de Cytogénétique, Université catholique de Louvain, Croix du Sud 5 - boîte 13, B-1348 Louvain-la-Neuve, BELGIQUE ;

[2] Laboratoire d'Amélioration végétale, Institut d'Agronomie, Université de Blida, B.P. 270, 9000 Blida, ALGÉRIE ;

[3] Laboratoire de Biologie végétale, Faculté des Sciences, Université de Tunis, Campus universitaire, 1060 Tunis, TUNISIE ;

[4] Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, CHILI ;

[5] Equipe d'Écotechnologie, Faculté de Pharmacie, Université de Paris-Sud XI, Tour E1 2ème, F-92296 Châtenay-Malabry, FRANCE.

INTRODUCTION

La salinisation des sols constitue, à l'échelle planétaire, l'un des principaux problèmes auxquels l'agriculture est confrontée. Fréquemment associée à la contrainte hydrique, elle entraîne une réduction des surfaces cultivables et menace l'équilibre alimentaire mondial. Tous les continents sont affectés et, selon certaines estimations, la superficie souffrant d'un excès de sel dans le monde serait aujourd'hui d'environ 1 milliard d'hectares. Chaque année, 10 millions d'hectares de terres irriguées sont abandonnées en raison des effets néfastes du sel (Szabolcs, 1994).

Au Maghreb et au Moyen-Orient, 15 millions d'hectares de terres agricoles sont sujets à une salinisation croissante. L'introduction d'arbustes fourragers résistants à l'aridité est l'un des moyens utilisés pour la valorisation de ces sols marginaux.

Les plantes du genre *Atriplex* sont présentes dans la plupart des régions du globe. Elles appartiennent à la famille des *Chenopodiaceae* et se caractérisent par leur grande diversité. Certaines espèces sont herbacées, d'autres arbustives; elles peuvent être annuelles ou pérennes. Plusieurs d'entre elles possèdent une résistance élevée à la sécheresse et à la salinité. L'*A. halimus L.* est un arbuste natif d'Afrique du Nord où il pousse en abondance; il s'étend également aux zones littorales méditerranéennes du Proche-Orient et de l'Europe et aux terres intérieures gypso-salines d'Espagne. Il est présent dans des régions où le déséquilibre écologique s'accentue et où le phénomène de désertification prend des dimensions alarmantes. Il y constitue, en période de sécheresse et de soudure, un fourrage apprécié des Camélidés et particulièrement des ovins et des caprins. Cependant, le surpâturage, les contraintes climatiques et l'absence de gestion rationnelle des parcours des troupeaux ont conduit à une forte dégradation de leurs peuplements.

En raison de l'intérêt écologique et pastoral d'*A. halimus*, un projet de recherche a été élu par l'Union Européenne en 1994. Son objectif est de contribuer aux efforts d'amélioration de la production des steppes fourragères à base de cette espèce dans le but d'accroître la production animale des régions arides méditerranéennes. Ce projet vise également à protéger ces écosystèmes particulièrement fragiles. Des laboratoires de Tunisie, d'Algérie, du Chili, de France et de Belgique collaborent à ce programme intitulé « Étude de la diversité biologique de *l'Atriplex halimus* pour le repérage *in vitro* et *in vivo* d'individus résistant à des conditions extrêmes du milieu et constitution de clones ». Des chercheurs d'Espagne, du Maroc et de Syrie coopèrent également à l'entreprise. L'objectif poursuivi sera atteint par le repeuplement de zones dégradées à l'aide de populations homogènes résistantes obtenues par le clonage *in vitro* d'individus choisis au sein de la diversité biologique de populations naturelles ou créées.

RÉSULTATS

La diversité au sein de l'espèce *A. halimus*

Les travaux réalisés jusqu'à présent ont mis en évidence le remarquable polymorphisme d'*A. halimus* . Ce polymorphisme semble être une caractéristique des chénopodiacées. En effet, Ozenda (1983) signale que « Les chénopodiacées sont d'une étude délicate... Beaucoup d'espèces se ressemblent, même d'un genre à l'autre ; et surtout certaines d'entre elles présentent un polymorphisme étonnant qui fait que l'aspect de la plante varie d'un pied à l'autre, voire d'une branche à l'autre, suivant l'état de développement et la saison ». Ce polymorphisme se manifeste tant au niveau de la morphologie des structures végétatives qu'au niveau des systèmes reproducteurs. Ainsi, nous avons observé que la forme des feuilles d'*A. halimus* peut correspondre à celle d'autres espèces du même genre. Elle varie également avec la provenance de l'individu et, sur un même pied, elle est différente selon l'état physiologique de la plante ou la position de la feuille sur un axe. Ainsi, le rabattage d'un pied, qui stimule le développement de bourgeons adventifs, entraîne très souvent l'apparition de feuilles hastées-dentées, alors qu'auparavant la plante formait des feuilles simples, ovales ou lancéolées, qui correspondent à la forme typique attribuée à l'espèce *A. halimus*.

Une grande diversité de comportements en présence de la contrainte saline a également été observée. Des cultures de tissus, initiées à partir de plantules en germination, vont soit proliférer, à un rythme lent certes, soit dégénérer progressivement sur un milieu contenant une concentration de sel de 300 mM.

Cette diversité de comportement constitue a n'en pas douter un handicap pour une étude raffinée des réactions de l'espèce aux variations de son environnement car elle affecte la reproductibilité des résultats. Par contre, elle laisse entrevoir la possibilité de sélectionner en son sein des individus adaptés à des conditions difficiles, dans lesquelles ils sont toujours capables de prospérer.

La résistance à la salinité et à la sécheresse

Des études ont été menées parallèlement au niveau cellulaire et sur la plante entière. Le caractère halophile de l'espèce a tout d'abord été confirmé. En effet, la croissance de la partie aérienne de jeunes plantes est stimulée en présence de NaCl à 150 mM. Une croissance optimale d'*A. halimus* à des concentrations de sel comprises entre 50 et 200 mM a été signalée à diverses reprises (Blumenthal-Goldschmidt et Poljakoff-Mayber, 1968 ; Gale et Poljakoff-Mayber, 1970 ; Ben Ahmed et al., 1996). Des

concentrations plus élevées ont, au contraire, un effet inhibiteur sur toutes les parties de la plante.

Des études parallèles menées au niveau cellulaire, grâce à la culture *in vitro*, et au niveau de la plante entière ont fait apparaître l'importance des caractéristiques structurales de la plante dans les mécanismes de résistance à l'excès de sel. Ainsi, le potentiel osmotique du suc cellulaire extrait des feuilles, des racines et des cals diminue avec l'augmentation de la salinité dans le milieu de culture. Au niveau racinaire, le potentiel osmotique reste proche de celui de la solution nutritive. Par contre, au niveau des feuilles, il est toujours nettement plus négatif. Les cals, qu'ils soient issus de feuilles et de racines, se comportent toujours de la même manière avec des potentiels osmotiques toujours inférieurs à ceux du milieu externe.

L'accumulation du sodium au niveau des cals est proportionnelle à la diminution du potentiel osmotique cellulaire (rv = 0,997), ce qui suggère une participation directe du sodium dans les processus d'ajustement osmotique. Par contre, au niveau des racines et des feuilles, l'accumulation du sodium, évidente aux concentrations de sel les plus faibles dans le milieu, ne se poursuit pas au-delà de 300 mM pour la partie aérienne et de 450 mM pour la partie racinaire. L'accumulation de proline pourrait intervenir dans les processus d'osmorégulation au niveau de la partie aérienne, aux concentrations les plus élevées de NaCl.

Dans le cas du stress hydrique, la chute de potentiel osmotique enregistrée au niveau des feuilles de plantes soumises à des arrosages espacés pourrait également s'expliquer par une accumulation de proline. Par contre la teneur en proline n'augmente pas dans des cals dont le potentiel osmotique est réduit par la présence de polyéthylène glycol dans le milieu de culture.

Ces résultats mettent en évidence d'importantes différences de comportement entre cultures cellulaires et plantes entières en présence d'une contrainte saline ou hydrique. Il faut se souvenir également que la résistance d'*A. halimus* au sel est liée à sa capacité de l'éliminer en l'accumulant dans des trichomes couvrant les surfaces foliaires (Mozafar et Goodin, 1970), un phénomène que nous n'avons pas étudié jusqu'à présent.

Ces études doivent évidemment être poursuivies pour définir quels sont les mécanismes réellement impliqués dans les processus de résistance aux contraintes saline et hydrique. C'est alors seulement que des marqueurs fiables de résistance pourront être identifiés et aider à la sélection d'individus intéressants.

Les qualités fourragères - Étude de la production de biomasse et de la palatabilité

Des études de production de biomasse et d'appétence de génotypes différents sont également réalisées. La situation en Algérie a malheureusement freiné les progrès dans cette voie et c'est essentiellement au Chili que les qualités et la productivité d'*A. halimus* ont pu être étudiées et comparées à d'autres espèces du genre. Dans les régions désertiques et méditerranéennes pré-arides, arides et semi-arides du Chili, il existe de vastes formations arbustives dominées par différentes espèces natives d'*Atriplex*. Parmi ces espèces, *A. atacamensis*, *A. imbricata*, *A. clivicola* et *A. deserticola* sont les plus abondantes. C'est toutefois l'*A. nummularia*, originaire d'Australie, qui a la préférence des éleveurs de caprins et d'ovins et près de 50 000 ha de parcours ont déjà été plantés à l'aide de cette espèce. Afin d'opérer un choix des espèces, provenances et génotypes d'Atriplex les plus appropriés, choix basé sur des critères de résistance au stress hydrique, de rendements en phytomasse fourragère, de

qualité nutritive et de palatabilité pour les ovins et les caprins, une vaste étude a été entreprise par l'équipe de l'Université du Chili.

La palatabilité a été exprimée par les taux de consommation du fourrage de chaque espèce ou provenance, par des animaux sélectionnés et identifiés. La quantité consommée a été déterminée sur la base des diamètres des tiges au niveau de la coupe opérée par les animaux durant la période expérimentale. Les équations permettant d'établir la phytomasse fourragère disponible en fonction du diamètre de la section de coupe avaient été préalablement établies.

Les études ont montré que les espèces, provenances ou individus les plus intéressants ne sont pas nécessairement les plus palatables. En effet, une palatabilité excessive favorise le surpâturage. Les arbustes à palatabilité moyenne, ou moyenne à haute, sont préférables.

Les *Atriplex* sont également utilisés au Chili pour satisfaire les besoins des petits éleveurs et agriculteurs en combustible, une pratique qui contribue, elle aussi, à accélérer le processus de désertification de parcours déjà détériorés par le surpâturage et la céréaliculture. L'étude chilienne a également établi les rendements en bois et les capacités calorifiques du bois de chauffe provenant des arbustes d'*Atriplex*. Enfin, il a été montré que la phytomasse fourragère provenant des *Atriplex* est particulièrement riche en matières azotées mais pauvre en énergie. Ce déficit énergétique peut être comblé par les fourrages herbacés ce qui a justifié une étude des effets des *Atriplex*, sur les couches superficielles du sol et sur la strate herbacée associée dans le but de sélectionner les arbustes qui favorisent la productivité et la qualité nutritionnelle fourragère de la strate herbacée.

Le clonage *in vitro*

La recherche d'une stratégie de clonage *in vitro* de l'espèce a été entreprise dans le but de pouvoir multiplier sur une large échelle les génotypes qui se seront révélés les plus performants, en vue d'un repeuplement des Atriplexaies : l'embryogenèse somatique et le bourgeonnement axillaire sont les deux voies privilégiées.

Il est aisé de produire du cal à partir de différents explants, particulièrement à partir de l'hypocotyle, et des cultures cellulaires peuvent être réalisées et stabilisées de façon à conserver un taux de prolifération constant d'une subculture à l'autre, à condition que les paramètres de dilution de la culture au moment de son établissement soient adaptés au génotype étudié. Ces cultures de tissus et de cellules permettent évidemment le développement d'une approche fondamentale des mécanismes de résistance aux stress, au niveau cellulaire, mais force est de constater que, jusqu'à présent, les réussites en terme de clonage *in vitro* sont insignifiantes. De nombreuses tentatives ont été faites pour stimuler l'embryogenèse somatique mais n'ont pas abouti jusqu'à présent. En bourgeonnement axillaire, de meilleurs résultats ont été obtenus. En partant d'apex, des taux de multiplication d'environ 3 ont été enregistrés en présence de BAP 0,5 mM.

CONCLUSION

Les travaux réalisés jusqu'à présent ont mis en évidence une importante variabilité intraspécifique qui se manifeste tant au niveau morphologique qu'au niveau physiologique. Cette variabilité présente de nombreux avantages pour la sélection de génotypes performants en conditions extrêmes mais affecte la reproductibilité des résultats. Le caractère halophile de l'espèce a été confirmé et les mécanismes impliqués dans les processus de résistance *d'Atriplex halimus* aux contraintes saline et hydrique sont à l'étude en vue de faciliter la recherche de marqueurs de cette

résistance. Des analyses de valeur fourragère, d'appétence et de production de phytomasse précisent l'intérêt du genre *Atriplex*, en général, en régions arides et semi-arides de type méditerranéen. Une association équilibrée entre arbustes et strate herbacée est nécessaire pour assurer une bonne alimentation du cheptel. Plusieurs obstacles restent à franchir pour la mise au point d'une technique performante de clonage *in vitro*.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier tous les collaborateurs sans lesquels ce travail n'aurait pu exister. Ils sont nombreux et ne peuvent être nommément cités : personnel du cadre, doctorants, étudiants en DEA. Cette recherche est financée par l'Union européenne (Contrat *n° TS3*-CT94-0264).*

Bibliographie

1. BEN AHMED, H., ZID, E., EL GAZZAH, M. et GRIGNON, C. (1996) Croissance et accumulation ionique chez *Atriplex halimus* L. Cahiers Agricultures, 5: 367-372
2. BLUMENTHAL-GOLDSCHMIDT, S. et Poljakoff-Mayber A. (1968) Effect of substrate salinity on growth and on submicroscopic structure of leaf cells of *Atriplex halimus* L. Austr. J. Bot., 16: 469-478
3. GALE, J. et POLJAKOFF-MAYBER A. (1970) Interrelations between growth and photosynthesis of salt bush (*Atriplex halimus* L.) grown in saline media. Aust. J. Biol Sci., 23: 937-945.
4. MOZAFAR, A. et GOODIN J.R. (1970) Vesiculated hairs: a mechanism for salt tolerance in *Atriplex halimus* L. Plant Physiol., 45: 62-65.
5. OZENDA P. (1983) Flore du Sahara, Ed. C.N.R.S., Paris
6. SZABOLCS I. (1994) Soils and salinization. *In*: M. Pessarakli (éd.) Handbook of Plant and Crop Stress, Marcel Dekker Inc. New York-Basel-Hong Kong, pp. 3-11.

A12 : Présentation d'un programme international d'amélioration du Blé dur pour le bassin méditerranéen

NACHIT M.M.[1]*, PICARD E.[2], MONNEVEUX P.[3], LABHILILI M.[1], BAUM M.[1], RIVOAL R.[4].

[1] CIMMYT/ICARDA Durum wheat program POBox 5466 Aleppo (Syrie) e mail : M.Nachit@CGNET.COM

* *Adresse pour le courrier concernant cette communication*

[2] Université de Paris-Sud XI,. Labo MVE, bât 360, F-91405 Orsay Cedex

[3] ENSAM INRA 2 Place Viala F-34060 MONTPELLIER Cedex 1

[4] INRA Rennes Unité Nématologie BP29 F-35650 Le RHEU.

PRÉSENTATION GÉNÉRALE DU PROGRAMME ET DU RÉSEAU DE RECHERCHE INTÉGRÉE

Origine du programme

La nécessité de ce réseau est née des activités mises en place depuis 1984 dans le cadre de collaborations bilatérales ou multilatérales entre certains partenaires du Nord et du Sud. Parmi celles-ci on trouve pour ce qui concerne la France, les actions du Ministère des Affaires Étrangères dans le domaine de la collaboration technique et scientifique (INRA, Universités) et les GRAM (Groupes de Recherches Agronomiques Méditerranéennes). Les chercheurs du programme blé dur CIMMYT/ICARDA entretiennent depuis 1977 avec les programmes nationaux des pays du sud du pourtour Meditérranéen et depuis 1986 avec la France des relations scientifiques dans le cadre de plusieurs programmes : a) programme tolérance à la sécheresse chez le blé dur, b) programme biotechnologies *in vitro* Université Paris Sud/ICARDA/MAE France, puis c) programme MAE-France/UNDP/ICARDA et d) l'évaluation des ressources génétiques (programme ICARDA/INRA France). On pourrait faire le même constat pour les autres équipes européennes (italiennes, belges et espagnoles), américaines (Canada et États-Unis) ou australiennes.

Ce réseau international «Durum wheat *SEWANA* » ou « Blé dur SEOUANA» (SE : Sud Europe ; OUA : Ouest Asie ; NA : Nord Afrique ou *SEWANA* en anglais avec *WA pour West Asia*) auquels se rattachent plusieurs institutions francophones du pourtour méditerranéen est donc le fruit de toutes les collaborations initiées et citées ci-dessus. Le réseau SEOUANA a été créé en Décembre 1993 à l'initiative plus particulièrement du programme blé dur CIMMYT/ICARDA (M. Nachit), de l'INRA-ENSAM Montpellier (P. Monneveux), et des membres français du comité de pilotage des biotechnologies à l'ICARDA (A. Deshayes pour l'INRA ; E. Picard pour l'Université Paris-Sud XI).

Objectif général

L'objectif du programme blé dur SEOUANA est de promouvoir une approche globale de l'amélioration génétique de cette céréale pour la tolérance aux stress biotiques et abiotiques ainsi que pour ses qualités pastière et semoulière, qui intègre en les combinant à la fois le marquage moléculaire de son génome nucléaire, les approches morphophysiologiques et biotechnologiques pour une meilleure utilisation des

ressources génétiques de cette espèce et de celles qui lui sont apparentées. La mise en œuvre de ce programme est sur le point d'aboutir à l'établissement de cartes de marqueurs moléculaires. Ces cartes doivent permettre de localiser des loci contrôlant la tolérance aux principaux stress abiotiques et biotiques ainsi que ceux qui contrôlent la qualité du grain, ce qui devra par conséquence améliorer l'efficacité de la sélection de cette céréale, très importante de point vue agricole et industriel pour tous les pays du pourtour méditerranéen.

La contrainte «sécheresse» est une des causes annuelles de pertes importantes en rendement des plantes cultivées dans les régions concernées. Chez le blé dur, ces pertes peuvent représenter de 10 à 80 % de la récolte. D'autres stress, comme les températures extrêmes (le froid et la chaleur terminale), liés à la sécheresse, ou bien des attaques parasitaires comme celles causées par les maladies racinaires (*root rot*), la cécidomie (mouche de Hesse), les nématodes, et les virus, viennent intensifier les dommages causés par la sécheresse. La sélection de la résistance/tolérance à ces contraintes est difficile à cause de leur nature complexe, de leur contrôle polygénique et des fortes interactions génotype x milieu observées dans leur expression.

Les variétés de pays (*landraces*) et les espèces apparentées sauvages (*wild relatives*) possédant des caractères nouveaux et intéressants sont évaluées et utilisées pour améliorer les variétés cultivées de blé dur.

Le réseau SEOUANA regroupe 40 Institutions (centres internationaux CIMMYT/ ICARDA, instituts nationaux agronomiques, universités) situées dans 16 pays dans le bassin méditerranéen, USA, Australie, et Canada) représentées par environ 80 chercheurs. La **figure 1** donne la composition du réseau : centres de recherche agronomiques, universités, instituts nationaux agronomiques, centres internationaux tel que l'ICARDA et le CIMMYT. Trois réunions du réseau -Montpellier, Alep, Rabat- ont déjà eu lieu. Les équipes francophones présentes et actives au sein du programme « Blé dur SEOUANA » sont nombreuses. Une partie du réseau SEOUANA prend part activement aux réseaux WANADDIN (CIMMYT/ICARDA/IFAD) et « Interdrought » (CEE-AIR). Ces équipes, aux spécialités et compétences complémentaires ont ainsi, comme on l'a vu, entre elles et avec le programme de blé dur CIMMYT/ICARDA, une longue expérience de collaboration (programmes bâtis autour de modèles génétiques communs, co-encadrements de thèses, stages et visites fréquents, échanges d'étudiants...).

L'existence de ce réseau a déjà servi de substrat à plusieurs projets. Les équipes françaises ont reçu un financement de soutien au réseau de la part de l'INRA de 1993 à 1998. Il a conduit également à la constitution d'une Action de Recherche Concertée (ARC) financée par l'AUPELF UREF pour la période allant de décembre 1995 à décembre 1999, dans le domaine des biotechnologies cellulaires.

LE PROJET SCIENTIFIQUE DU RÉSEAU SEOUANA

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. *var durum*) est cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen. Le blé dur représente environ 8% des superficies de blé dans le monde ; sa culture est principalement pratiquée sous des climats de type méditerranéen, caractérisés par des sécheresses : celles-ci seraient responsables des pertes représentant 10 à 50 % de la collecte suivant les années. Le blé dur occupe, dans les pays du pourtour méditerranéen, une place importante dans l'alimentation humaine, et elle est à l'origine de nombreux aliments traditionnels (couscous, taboulé, frikey, pâtes alimentaires, pains et galettes de semoule,...). Les pays méditerranéens sont des gros consommateurs de blé dur. Dans le cadre international, la collaboration

méditerranéenne et francophone joue un rôle important dans la recherche sur l'amélioration génétique chez le blé dur.

Le projet scientifique du réseau SEOUANA s'organise ainsi autour des axes suivants :

1. *L'étude des caractères morphophysiologiques de tolérance aux stress hydrique et thermique :* variations au sein de l'espèce blé dur et des espèces apparentées, étude du déterminisme génétique, recherche de critères prédictifs de la stabilité de rendement et de l'efficience d'utilisation de l'eau.
2. *L'établissement de la carte des marqueurs moléculaires du blé dur.*
3. *L'établissement des cartes génétiques de croisements intra et interspécifiques, en vue de l'identification par approche QTL,* « *quantitative trait loci* », de marqueurs de résistance aux stress abiotiques (stress hydrique) et biotiques (principalement mouche de Hesse et nématodes à kystes) ou de marqueurs de la qualité.
4. *L'amélioration de la qualité, (objectif de sélection incontournable chez le blé dur).*
5. *Le développement des biotechnologies* in vitro, *en particulier* : l'haplodiploïdisation, la culture de cellules isolées embryogènes, la culture de microspores isolées et le sauvetage d'embryons immatures.
6. *L'utilisation plus efficiente des ressources génétiques.*

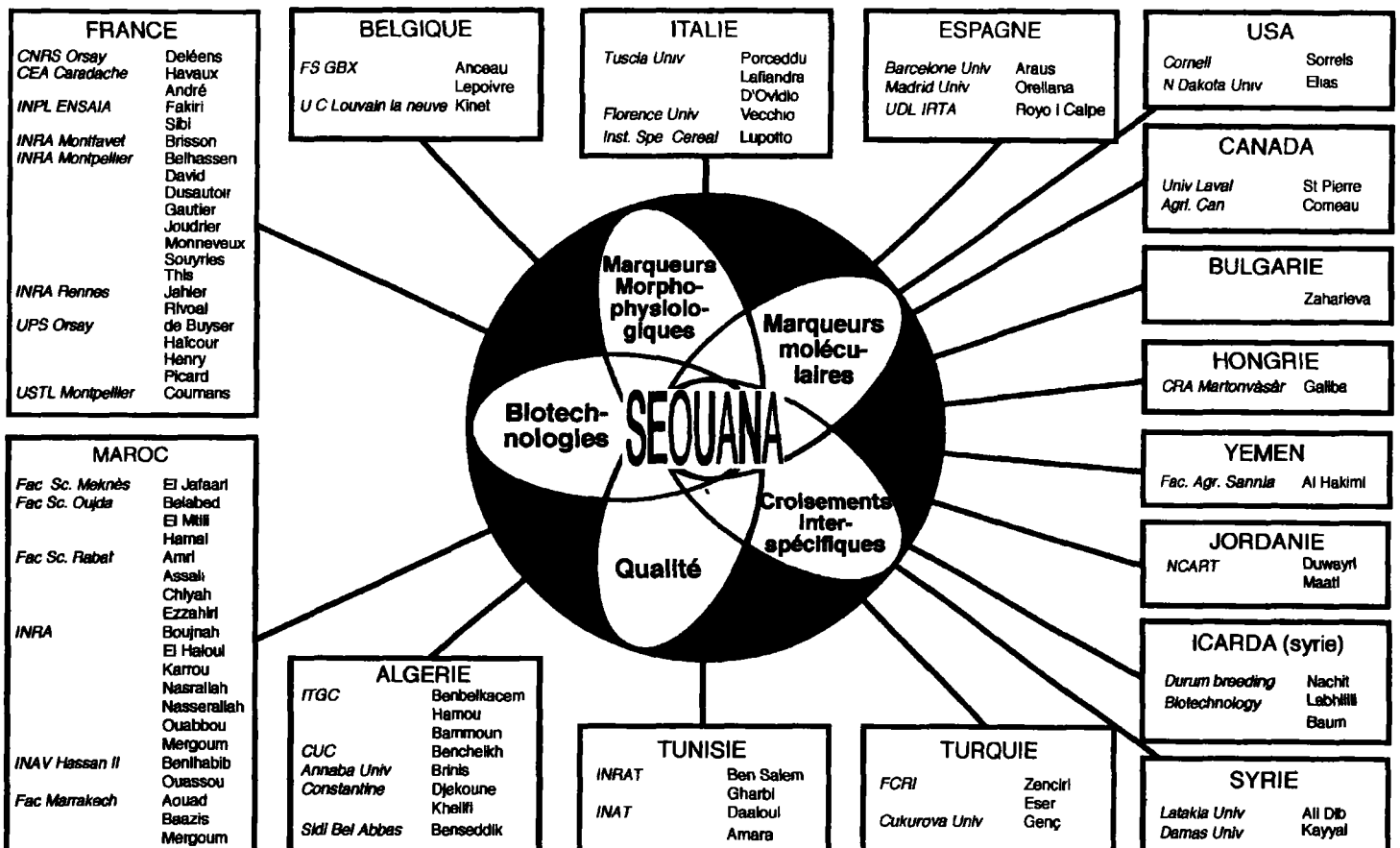
Les programmes menés au sein du réseau ont la particularité :

- de combiner étroitement ces différents outils (outils physiologiques, marquage moléculaire, biotechnologies) et différentes équipes ;
- de porter sur des « modèles génétiques » (variétés-témoins, collections de référence, populations de SSD issues des mêmes croisements ou plus tard d'haploïdes doublés) communs à plusieurs partenaires de réseau. Afin de ne pas disperser les efforts et de pouvoir comparer les résultats et les exploiter sur une base commune, il a été décidé pour l'instant de travailler le plus possible sur une collection commune de lignées et à partir d'un seul croisement cible (Cham 1 x Jennah Khetifa) pour la cartographie génomique. De même, pour les croisements éloignés une collection de Triticum 2n et 4n a été choisie après évaluation. On trouvera ci-après quelques uns des aspects de ce programme.

Analyse et introgression des caractères morphophysiologiques de tolérance à la sécheresse des espèces sauvages apparentées chez le Blé dur

L'amélioration génétique de la tolérance à la sécheresse d'une espèce cultivée passe par une sélection pour des caractères morphophysiologiques liés au rendement en conditions de sécheresse. Cette sélection « indirecte » exige préalablement :

- une identification et une étude génétique (héritabilité, mode de transmission) des caractères retenus ; une telle étude doit être menée sur des populations en ségrégation (populations F2 et BC1, lignées issues de SSD ou d'haplodiploïdisation), obtenues à partir de géniteurs connus (« matériel de référence»), et qui peuvent également servir à la recherche de marqueurs moléculaires de la tolérance ;
- une validation du choix des caractères retenus, à partir de schémas de sélection divergente pour ces caractères incluant une évaluation du matériel produit dans des environnements contrastés.
- une recherche de certains caractères de tolérance chez les espèces apparentées, et leur introgression chez le blé dur.


FRANCE
CNRS Orsay Deléens
CEA Caradache Havaux
André
INPL ENSAIA Fakiri
Sibi
INRA Montfavet Brisson
INRA Montpellier Belhassen
David
Dusautoir
Gautier
Joudrier
Monneveux
Souyries
This
INRA Rennes Jahier
Rivoal
UPS Orsay de Buyser
Haïcour
Henry
Picard
USTL Montpellier Coumans
BELGIQUE
FS GBX Anceau
Lepoivre
U C Louvain la neuve Kinet
ITALIE
Tuscia Univ Porceddu
Lafiandra
D'Ovidio
Florence Univ Vecchio
Inst. Spe Cereal Lupotto
ESPAGNE
Barcelone Univ Araus
Madrid Univ Orellana
UDL IRTA Royo i Calpe
USA
Cornell Sorrels
N Dakota Univ Elias
CANADA
Univ Laval St Pierre
Agri. Can Corneau
BULGARIE
Zaharieva
HONGRIE
CRA Martonvàsàr Galiba
YEMEN
Fac. Agr. Sannia Al Hakimi
JORDANIE
NCART Duweyri
Maatl
ICARDA (syrie)
Durum breeding Nachit
Biotechnology Lebhilili
Baum
SYRIE
Latakia Univ Ali Dib
Damas Univ Kayyal
TURQUIE
FCRI Zenciri
Eser
Cukurova Univ Genç
TUNISIE
INRAT Ben Salem
Gharbi
INAT Daaloul
Amara
ALGERIE
ITGC Benbelkacem
Hamou
Bammoun
CUC Benchelkh
Annaba Univ Brinis
Constantine Djekoune
Khelifi
Sidi Bel Abbas Benseddik
MAROC
Fac Sc. Meknès El Jafaari
Fac Sc. Oujda Belabed
El Mtili
Hamal
Fac Sc. Rabat Amri
Assali
Chlyah
Ezzahiri
INRA Boujnah
El Haloui
Karrou
Nasrallah
Nasserallah
Ouabbou
Mergoum
INAV Hassan II Benlhabib
Ouassou
Fac Marrakech Aouad
Baazis
Mergoum
Marqueurs Morpho-physiologiques
Marqueurs moléculaires
Biotechnologies
SEQUANA
Croisements inter-spécifiques
Qualité

Plusieurs génotypes de blé dur sont générés à partir des croisements avec des espèces sauvages dont certains cumulent la productivité et la tolérance aux stress biotiques et abiotiques tels que la résistance aux rouilles, septoriose, virus russe de blé, sécheresse, froid, et chaleur. Ces résultats sont encourageants et prometteurs pour l'utilisation à grande échelle des espèces sauvages dans l'amélioration génétique chez le blé dur.

Les caractères morphophysiologiques au sein des populations de référence en cours de marquage

L'intégration des études physiologiques, génétiques, et moléculaires, passe par le choix d'un matériel de référence unique servant de base à l'ensemble de ces études. Le choix doit être effectué en tenant compte du comportement agronomique des variétés, de leurs caractéristiques physiologiques (caractères racinaires, ajustement osmotique, photosynthèse,...) et de leur capacité androgénétique (l'obtention d'haploïdes doublés facilitant les études génétiques et moléculaires ultérieures).

Divers caractères morphophysiologiques de tolérance à la sécheresse seront étudiés sur des populations de lignées SSD, puis d'haploïdes doublés, obtenus à partir du croisement ciblé Cham1 x Jennah Khetifa (variétés contrastées pour un ensemble de caractères morphophysiologiques, –en particulier pour leur capacité d'ajustement osmotique–, qualité du grain, résistance aux maladies, et possédant une bonne capacité androgénétique). Ce matériel de référence permettra une étude génétique de divers caractères morphophysiologiques liés à l'ajustement osmotique et à la photosynthèse ; il servira également de base à une recherche de marqueurs moléculaires de ces caractères.

Les caractères morphophysiologiques observés chez les lignées au cours d'une sélection divergente

La mise en évidence de relations entre le rendement en conditions de sécheresse et certains caractères morphophysiologiques ne permet pas à elle seule de conclure un rôle effectif de ces caractères dans les mécanismes de tolérance. La sélection pour ces caractères, suivie d'une évaluation agronomique du matériel issu de la sélection, est une voie possible de validation. Une telle procédure, qui conduit à travailler sur des populations en ségrégation, est par ailleurs susceptible d'apporter des informations utiles sur la génétique (héritabilité, mode de transmission) des caractères concernés.

L'objectif des travaux entrepris est d'évaluer les effets d'une sélection pour certains caractères morphophysiologiques tels que le volume racinaire, la teneur relative en eau, l'accumulation de proline, la fluorescence chlorophyllienne, et le rapport isotopique du grain (13C/12C) ; et pour la qualité de grain tels que le contenu de protéine, les caroténoïdes, et la force de gluten. Le calcul de l'héritabilité de ces caractères permettra par ailleurs de préciser les conditions de leur utilisation en sélection.

Cette recherche est conduite de plus sur du matériel issu de croisements interspécifiques entre espèces tétraploïdes. Ceci devrait compléter nos informations sur l'intérêt potentiel de ces espèces pour l'amélioration du blé dur.

Un programme de sélection récurrente, dont l'objectif serait de « cumuler » ces différents caractères et mécanismes d'adaptation à la sécheresse a été initié; il viendrait compléter une étude comparative de différents schémas de sélection (généalogique, bulk, F2 progeny) déjà appliqués sur ce matériel.

Les travaux précédents élaborés sur l'utilisation des variétés locales et les caractères morphophysiologiques ont abouti au développement de plusieurs variétés de blé dur

adaptées aux conditions climatiques à déficit hydriques. La première génération de ces variétés telles que Cham1 et Cham3, qui ont remplacé les variétés locales pour la première fois dans les zones arides, sont cultivées maintenant sur des larges superficies qui dépassent déjà des millions d'hectares dans le bassin méditerranéen. Quant à la deuxième génération de variétés de blé dur telles que Omrabi et Awalbit, qui démontre un niveau plus haut de tolérance à la sécheresse, elle est d'ores et déjà lancée par plusieurs pays pour la production commerciale. Ces variétés montrent aussi une productivité plus stable, elles sont moins sensibles aux variations climatiques. Les orientations actuelles du programme ciblent une tolérance combinée aux stress abiotiques multiples (sécheresse, froid, et chaleur).

Mise en évidence de gènes candidats impliqués dans la tolérance à la sécheresse chez le blé dur et cartographie moléculaire des caractères associés aux stress biotiques et abiotiques.

• *Cartographie d'une population de Blé dur de référence*

Un croisement modèle (le croisement Jennah Khetifa x Cham 1) a été réalisé en 1992 et vers la fin de l'année 1995, les lignées ont été multipliées et les graines sont distribuées à tous les instituts collaborant au projet. De même, une accession de l'espèce sauvage *Triticum dicoccoides* a été croisée puis recroisée avec Korifla et Omrabi5 en 1992. Par sélection SSD, les populations sont conduites jusqu'au stade F_6 et multipliées à la génération F_7. Des analyses de linkage notamment pour l'établissement de QTL sont faites en utilisant les marqueurs RFLPs, RAPDs, microsatellites, et AFLPs. Le marquage moléculaire par des marqueurs RFLPs est fait en collaboration avec l'Université Cornell, Ithaca, USA. Les populations de lignées obtenues sont testées dans des sites et au travers du réseau multilocal d'essai coordonné par le programme blé dur de CIMMYT/ICARDA. Les informations obtenues a partir de ce réseau d'essai sur les performances aux champs, laboratoires, et les résistances des caractères morphophysiologiques et physiologiques seront utilisés pour l'étude et l'analyse des QTL. Les lignées bien contrastées pour des caractères à hérédité simple seront sélectionnées. Une carte de marqueurs est d'ores et déjà construite et une carte de QTL est en cours de construction.

• *Polymorphisme des gènes candidats impliqués dans la tolérance à la sécheresse chez le blé dur. Marqueurs moléculaires liés à des loci contrôlant la tolérance à la sécheresse*

Dans le but d'identifier des marqueurs moléculaires de l'adaptation à la sécheresse, l'étude des gènes inductibles par un stress hydrique a été entreprise. L'intérêt a été porté sur les gènes qui codent pour les LEA (*late embryogenesis abundant*) protéines, qui sont synthétisées spécifiquement pendant la phase de dessication du grain et pourraient faire partie du système de tolérance au stress hydrique. C'est en fin de développement, juste avant la dessication finale de l'embryon, que les ARNm et les LEA protéines sont les plus abondants. Cette recherche devrait permettre d'améliorer nos connaissances des bases moléculaires de la tolérance à la sécheresse des blés durs, et du comportement de cultivars tolérants et sensibles.

La définition de marqueurs moléculaires stables liés aux loci contrôlant la tolérance à la sécheresse permet d'envisager une sélection assistée par marqueurs pour l'amélioration de ce caractère chez le blé dur, facilitant ainsi le choix du sélectionneur.

Par ailleurs l'approche QTL (*quantitative trait loci*) menée actuellement sur l'orge considérée comme modèle doit être progressivement transférée au blé dur et aux

espèces apparentées, en favorisant le positionnement, sur les cartes génétiques, des mécanismes considérés et analysés.

• *Développement de marqueurs moléculaires pour la caractérisation des biotypes de Mouche de Hesse et Nématodes*

Plusieurs stress biotiques interagissent avec le déficit hydrique pour réduire de manière drastique les rendements du blé dur en zones méditerranéennes : c'est le cas pour les maladies des racines, mouche de Hesse et nématodes. L'amélioration de la production du blé dur passe donc dans ces zones par un meilleur contrôle de ces parasites largement distribués. La lutte contre la mouche de Hesse et les nématodes des céréales ne peut, pour des raisons techniques, économiques, et environnementales, être envisagée que par l'amélioration génétique de la résistance. Les connaissances réunies sur la mouche de Hesse et les nématodes à kystes des céréales montrent toutefois que cette lutte contre ces parasites par la résistance variétale ne peut réussir que si l'on utilise des gènes de résistance efficaces à l'encontre de la virulence des biotypes visés.

Le projet a pour but d'étudier dans un premier temps la variabilité des mouches de Hesse et des nématodes quant à leur virulence, pour réaliser dans un second temps des études sur le marquage de la résistance et la sélection de variétés. Il offre l'opportunité d'approfondir la connaissance de la variabilité dans ces deux taxons dont la richesse résulte vraisemblablement de la co-évolution plante-parasite obligatoire.

Amélioration de la qualité du grain chez le blé dur

Chez le blé dur, la qualité est primordiale. En l'absence de cette qualité, c'est le blé tendre, plus productif, plus polymorphe, qui sera cultivé. La qualité fait donc partie intégrante de la spécificité du blé dur, céréale avant tout méditerranéenne. Les espèces sauvages, les variétés locales et les populations de pays représentent une source très riche de variabilité pour les caractères de qualité. Le *Triticum dicoccoides* est utilisé intensivement dans l'amélioration génétique pour améliorer la valeur nutritionnelle et technologique de blé dur.

Le rôle des gliadines et des sous-unités communes de gluténines est déjà bien connu. Par contre, on peut envisager d'étudier par exemple le rôle des sous-unités rares et les petites protéines riches en cystéine qui n'ont pas encore fait l'objet d'études systématiques en ce qui concerne la variabilité et les effets sur la qualité.

À partir de la variabilité intraspécifique de base étudiée au sein du programme SEOUANA (144 accessions et lignées fixées issues des croisements de référence), le polymorphisme pour les protéines de réserve (gluténines, gliadines) et pour les petites protéines riches en cystéine (Lipid Transfer Proteins, CM protéines inhibitrices d'alpha-amylase, impliquées dans l'état de surface des pâtes) est étudié. La relation avec les prédicteurs simples de la qualité des semoules (dureté) et des pâtes (test de sédimentation, farinographe de Brabender) sera établie.

La sélection assistée par marqueurs (SAM) ouvre dans ce champ de nouvelles possibilités. Les gliadines de type gamma-45 et gamma-42 et les gluténines de faible poids moléculaire (LMW) de type 1 et 2, ont été associées à la force de gluten chez le blé dur. L'amplification par PCR, technique rapide et simple, des différents allèles de gamma gliadines et LMW gluténines de type 1 et 2, a été développée en collaboration avec l'université de Tuscia, Viterbo, Italie. L'identification de quelques marqueurs moléculaires associés à la qualité est utilisée, d'autres marqueurs moléculaires et la carte génomique du blé dur sont en cours de développement.

Biotechnologies cellulaires

L'un des objectifs importants du programme Blé dur SEOUANA est de promouvoir l'utilisation combinée des outils biotechnologiques et ceux de la sélection plus classique. Notamment, il est désormais acquis que l'haplodiploïdisation est un outil efficace tant en sélection qu'en marquage moléculaire. De même, il est probable que les cultures cellulaires *in vitro* (suspensions cellulaires, cultures de microspores isolées) permettront de tester *in vitro* la variabilité génétique de réponse aux stress et de classer les génotypes suivant ce critère. Enfin, la mise au point de modèles cellulaires hautement performants, facilitant la régénération, rendra plus probable la réussite de la transformation génétique chez le blé dur.

• *Production de populations de référence d'haploïdes doublés (HDs) pour la cartographie. Amélioration des méthodes de production d'HD*

La construction de cartes de marqueurs moléculaires est grandement facilitée quand on utilise des populations d'HDs issues des croisements étudiés. Ces lignées que l'on peut considérer comme «éternelles», permettent de mieux étudier leur valeur génétique d'une part, et d'autre part donne accès à toute la variabilité génétique sans ambigüité (dominance, co-dominance).

Le premier objectif est d'obtenir à partir du croisement de référence (Cham1 x Jennah Khetifa) un nombre suffisant de lignées HDs (200 HDs environ) pour constituer une population de référence pour la cartographie. Pour ce faire, nous sommes en train d'utiliser principalement le croisement intergénérique avec le maïs, qui est la seule méthode efficace aujourd'hui chez le blé dur pour l'obtention d'haploïdes doublés, en tentant d'améliorer cette méthode notamment en ce qui concerne la régénération de plantes.

La méthode de culture de microspores isolées est également expérimentée.

• *Étude de deux modèles cellulaires pour la recherche de critères d'évaluation au niveau cellulaire de l'adaptation aux stress et pour la sélection* in vitro.

• *Le modèle culture de cellules isolées embryogènes.*

On cherchera à savoir si les cultures de suspensions cellulaires obtenues à partir des tissus somatiques d'embryons haploïdes ou diploïdes des lignées de blé dur étudiées dans le programme SEOUANA ont un comportement corrélé à celui du comportement de ces lignées aux champs. Peut-on utiliser un tel système pour évaluer au niveau cellulaire les ressources génétiques?

Le but est de caractériser les paramètres métaboliques des suspensions cellulaires soumises aux stress étudiés par rapport à un témoin *in vitro* non stressé. Un autre objectif poursuivi est d'établir des cultures en suspension cellulaires haploïdes et diploïdes très embryogènes afin de permettre les premières tentatives de transformation génétique.

• *Le modèle de culture de microspores isolées*

Le thème général de cette recherche est l'étude de la variabilité génétique de la réponse aux stress thermique ou salin des microspores isolées de blé tendre et de blé dur cultivées *in vitro*. Le modèle blé tendre devra dans ce cas servir à établir un modèle de culture de microspores isolées chez le blé dur. Peut-on déterminer au niveau mono-cellulaire haploïde (microspores isolées cultivées *in vitro* sous stress) la sensibilité ou la tolérance aux stress des lignées de blé tendre ou de blé dur ? Y a-t-il une corrélation positive entre le comportement de ces microspores *in vitro* et celui des plantes

adultes ? Enfin, peut-on sélectionner au cours de la culture des microspores pour la tolérance aux stress hydrique ou salin?

L'objectif est de définir les paramètres cellulaires discriminants qui caractérisent la réponse précoce des microspores isolées *in vitro* aux stress hydrique ou salin. D'autre part, on cherchera à appliquer la méthode de culture de microspores isolées chez le blé dur afin d'améliorer la production de plantes haploïdes chlorophylliennes chez cette espèce et plus tard de transformer génétiquement cette espèce en se servant des microspores embryogènes comme cibles dans des expériences de biolistique.

L'utilisation des espèces apparentées sauvages dans l'amélioration génétique de Blé dur

De nombreux caractères d'intérêt pour la tolérance aux stress abiotiques (déficit hydrique, salinité, hautes et basses températures) sont présents chez les espèces sauvages de blé domestiquées du genre *Triticum*, chez les espèces du genre *Aegilops* ou chez les variétés locales de blé dur. Si ces espèces ont été largement utilisées pour l'amélioration de la résistance aux maladies, il n'en est pas de même dans le cas des tolérances aux stress abiotiques (multigéniques, et plus délicates à manipuler en sélection. Cette étude passe par une amélioration de la gestion de ces ressources (analyse de la diversité génétique, constitution de collection de référence), de leur évaluation (vis-à-vis des stress abiotiques et biotiques), et de l'introgression des caractères favorables.

Les différentes étapes de cette recherche sont les suivantes :

- criblage de populations des espèces sauvages et particulièrement d'*Aegilops* de différentes espèces et origines, pour la tolérance au stress hydrique, à partir de critères simples (teneur relative en eau, rapport isotopique) ; cette évaluation est complétée par une évaluation « en réseau » pour d'autres caractères (résistance aux nématodes, résistance aux maladies foliaires et tolérance au froid, résistance à la mouche de Hesse, résistance au virus de la jaunisse nanisante), ainsi que par des études de structuration de la diversité des *Aegilops* méditerranéens ;
- criblage spécifique pour la tolérance aux hautes températures, et comparaison du blé dur et des *Aegilops* pour différents mécanismes intervenant dans la tolérance aux stress combinés déficit hydrique x hautes températures x hautes intensités lumineuses ;
- réalisation de croisements interspécifiques: création d'amphiploïdes et lignées recombinantes ;
- sélection des lignées selon une stratégie à deux « voies » : voie « analytique » (suivi des introgressions par marqueurs et évaluation physiologique des recombinants) d'une part et voie « globale » (gestion dynamique des populations dans différents environnements).

Les résultats préliminaires montrent que l'utilisation des espèces apparentées sauvages est prometteuse pour l'amélioration des tolérances aux contraintes abiotiques.

CONCLUSION

Au cours des dernières années, et pour mieux répondre aux enjeux que représente pour les zones méditerranéennes l'amélioration génétique de cette espèce, les collaborations entre scientifiques travaillant sur le blé dur se sont considérablement développées. Le programme « Blé dur SEOUANA » s'est donné pour objectifs de développer et de rendre plus efficaces ces collaborations, en les structurant autour de thématiques ou d'outils jugés prioritaires pour l'amélioration génétique du blé dur et en promouvant la

prise en compte de plusieurs niveaux d'intégration. Cela a déjà conduit au développement de variétés tolérantes aux stress biotiques et abiotiques incluant la sécheresse. Ces nouvelles variétés recombinant productivité et tolérance à la sécheresse commencent à être cultivées sur des grandes superficies.

Cette approche globale combine non seulement la sélection conventionnelle, mais également les méthodes de cultures *in vitro*, les outils morphophysiologiques et les marqueurs moléculaires, pour l'obtention d'un germoplasme qui peut être utilisé immédiatement par les sélectionneurs dans le but d'augmenter la durabilité de l'agriculture dans l'environnement méditerranéen.

Bibliographie

1. AL HAKIMI A., MONNEVEUX P. 1993. Variation of some morphophysiological traits of drought tolerance in tetraploid wheats. In; Biodiversity and Wheat Improvement, Damania A.B. ed., 199-216.
2. AL HAKIMI A., MONNEVEUX P., Deléens E. 1995a. Selection response for carbon isotope discrimination in a *Triticum polonicum* x *Triticum durum* cross: potential interest for improvement of water efficiency in durum wheat. Plant Breeding (sous presse).
3. AL HAKIMI A., MONNEVEUX P., Galiba G. 1995b. Soluble sugars, proline, and relative water content (RWC) as traits for improving drought tolerance and divergent selection for RWC from *T. polonicum* into *T. durum*. J. Genet. and Breeding, 49, 237-244.
4. AL HAKIMI, A., MONNEVEUX P., NACHIT M.M.. 1996. Direct and indirect selection for drought tolerance in alien tetraploid wheat x durum wheat crosses. 5th International Wheat Conference, June 10-14, 1996, Ankara. Abstracts,p.172.
5. ALI DIB T. , MONNEVEUX P., ACEVEDO E., NACHIT M. 1991. Evaluation of proline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolearnce indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*), Euphytica, 79, 65-73.
6. ALI DIB T., MONNEVEUX P. 1992. Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. I. Caractères morphologiques d'enracinement. Agronomie, 12, 371-379.
7. AMARA. H, DAALOUL A. 1993. Comparaison de milieux pour la production d'haploides chez le blé dur (*Triticum durum*) In: Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditéranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier. Eds INRA Paris.
8. AMRANI N., SARRAFI A., ALIBERT G. 1993. Genetic variability for haploid production in crosses between tetraploid and hexaploid wheats with maize. Plant Breeding , 110: 123-128.
9. ARAUS J.L. ALEGRE L., ALI DIB T., BENLARIBI M., MONNEVEUX P. 1991. Epidermal and stomatal conductance in seedlings of durum wheat landraces and varieties. *In* Acevedo E., Conesa A.P., Monneveux P., Srivastava J.P., Physiology-Breeding of Winter cereals for stressed mediterranean environments. INRA ed. Les Colloques n° 55, 225-242.
10. ARNAU G., MONNEVEUX P., ALEGRE L., ARAUS J.-L. Osmotic adjustment and effects on water deficit on photosynthetic capacity in barley. (accepté, Photosynthetica)
11. AUTRIQUE E., NACHIT M.M., MONNEVEUX P., TANKSLEY S.D., SORRELS M.E. 1996. Genetic diversity in durum wheat based on restriction fragment length polymorphism, morphophysiological traits and coefficient of parentage. Crop Sci., 36, 735-742.
12. BELHASSEN E., THIS D., MONNEVEUX P. 1995. l'adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. Cahiers de l'Agriculture, 4, 251-261.
13. COMEAU A., PLOURDE A., ST PIERRE C.A., NADEAU P. Production of doubled haploid wheat lines by wheat x maize hybridization. Genome, 1988, 30 , Suppl 1: 482 (Résumé).
14. COUMANS M.P., BOUTOUCHENT B., DUSAUTOIR J.C., KAAN F. Obtention d'embryons par croisements interspécifiques entre le blé dur et d'autres céréales. In: Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditéranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier. Eds INRA Paris 1993: 375-381.
15. DE BUYSER J, PICARD E. 1996 Poster Abstracts. Plant Embryogenesis Workshop. From Single Cell to Plant. HAMBURG Inst of General Botany. Sept 12-14 1996.

16. EL BOUHSSINI M., LHALOUI S., AMRI A., JLIBENE M., HATCHETT J.H., NSSARELLAH N., NACHIT M.M.. 1996. Wheat genetic control of Hessian fly (Diptera: Cecidomyiidae) in Morocco. Field Crop Research. 45: 111-114.
17. EL HADDOURY J., CHLYAH H., PICARD E., 1993. Etude de l'effet de quelques facteurs génotypiques et environnementaux de l'androgennèse in vitro chez des variété de blé tendre adaptées au Maroc. Dans : "Le progrès génétique passe-t-il par le repérage des gènes ?". Editeurs : Y. Demarly, H. Chlyah. Eds AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext Paris 1993 : 221-232.
18. EL HADDOURY J., CHLYAH H., PICARD E., 1993. Étude de l'effet de quelques facteurs génotypiques et environnementaux de l'androgenèse *in vitro* chez des variété de blé tendre adaptées au Maroc. Dans : "Le progrès génétique passe-t-il par le repérage des gènes ?". Editeurs : Y. Demarly, H. Chlyah. Eds AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris 1993 : 221-232.
19. GHAEMI M., SARRAFI A., ALIBERT G. Influence of genotype and culture conditions on the production of embryos from anthers of tetraploid wheat (Triticum turgidum). Euphytica, 1993, 65: 81-85.
20. HAVAUX M. 1993. La fluorescence de la chlorophylle *in vivo*: quelques concepts appliqués à l'étude de la résistance de la photosynthèse aux contraintes de l'environnement. In: Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Colloque INRA-ENSA-AGROPOLIS, Montpellier (France), INRA ed. n°64, 19-30.
21. IMPIGLIA A., NACHIT M.M., SALEH A., LAFIANDRA D., and PORCEDDU E. 1996. Occurrence of unusual storage proteins electrophoretic patterns in durum wheat and their effect on gluten strength. 5th International Wheat Conference, June 10-14, 1996, Ankara. Abstracts, p.68.
22. KAYYAL H., ABU HAMZE H., JARRAH M., NACHIT M.M. 1995. Durum wheat production and quality in Syria. In: Durum Wheat Quality in the Mediterranean Region. Options Mediterranéennes, serie A, No.22, CHEAM. Edits: Di Fonzo, F. Kaan, M.Nachit. Region, Zaragoza, Spain, 17-19 Nov., 1993. p. 127-32
23. LASHERMES P. Screening for stress tolerant genotypes via microspore in vitro culture. In: Physiology and breeding of winter cereals for stressed meditarranean environments., Montpellier, France, July 3-6, 1989, Eds: Acevedo E., Conesa A. P, Monneveux Ph, Srivastava J. P, INRA/ICARDA, Paris, 1991, Colloques n°55: 461-474.
24. MERGOUM M., NACHIT M.M., and NASRELLAH N. 1993. Screening durum wheat for dryland root rot resistance in Morocco. Agr. Abs., American Society of Agronomy, Cincinnati, Ohio, USA.
25. MIHAMOU-ZIYYAT A., IBRIZ M., MONNEVEUX P. et PICARD E., 1993, Sélection gamétique *in vitro* au cours de l'androgenèse pour la tolérance au choc thermique : application au blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Le progrès génétique passe-t-il par le repérage des gènes ? Editeurs : Y. Demarly, H. Chlyah.Eds AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris 1993 : 207-220.
26. MONNEVEUX P. 1991. Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales ? In: L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, Demarly Y. et Chalbi N. eds., AUPELF-UREF, 165-186.
27. MONNEVEUX P., BELHASSEN E. 1996. The diversity of drought adaptation in the wide. Plant Growth Regulation, 20, 85-92.
28. NACHIT M., BAUM M., AUTRIQUE E., SORRELLS M.E., ALI DIB T., MONNEVEUX P. 1992. Association of morphophysiological traits with RFLP markers in durum wheat. *In*: Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Colloque INRA-ENSA-AGROPOLIS, Montpellier (France), INRA ed. n°64, 429-434.
29. NACHIT M.M. 1996. Durum integrated research network for Mediterranean dryland. 5th International Wheat Conference, June 10-14, 1996, Ankara, Turkey. Book of abstracts, p. 458.
30. NACHIT M.M., BAUM M., IMPIGLIA A., KETATA H. 1995. Studies on some grain quality traits in durum wheat grown in the Mediterraean environments. In: Durum Wheat Quality in the Mediterranean Region. Options Mediterranéennes, serie A, No.22, CIHEAM. Edits: Di Fonzo, F. Kaan, M.Nachit. Region, Zaragoza, Spain, 17-19 Nov., 1993. p. 181-188.
31. NSARELLAH N., NACHIT M.M., EL BOUHSSINI M., AMRI A. 1996. Introgression of Hessian Fly reistance into durum wheat5th International Wheat Conference, June 10-14, 1996, Ankara, Turkey. Book of abstracts, *in press*.

32. PAGNOTTA M.A, IMPIGLIA A., TANZARELLA O.A., M.M. NACHIT M.M., PORCEDDU E.. 1996. Variability present in durum wheat landrace Haurani. 5th International Wheat Conference, June 10-14, Ankara. Bookofabstracts,p.67.
33. PICARD E., CRAMBES E., MIHAMOU-ZIYYAT A., 1994 L'haplodiploïdisation : un outil multi-usage pour la génétique et l'amélioration des céréales. Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF.UREF John Libbey Eurotext, Paris. PP 347-361
34. PICARD E., CRAMBES E., LIU G.S., MIHAMOU-ZIYYAT A., 1995. Evolution des méthodes d'haplodiploïdisation et perspectives pour l'amélioration des plantes. Comptes-Rendus de la Société de Biologie. C.R. Soc. Biol., 1994, 188, 107-139.
35. PICARD E., RODE A., DOUSSINAULT G., ROUSSET M., RIVES M. 1990. Wheat (*Triticum aestivum*): *in vitro* production and utilization of doubled haploïds. *In* Bajaj Y.P.S. (ed), Biotechnology in Agriculture and forestery, Springer-Verlag, Berlin, 101-124.
36. RYAN J., ABDEL MONEM M., SCHROYER J.P., EL BOUHSSINI M., NACHIT M.M. 1996 Potential for nitrogen fertilization and Hessian fly resistance to improve Morocco's sryland wheat yields. European Journal of Agronomy. *in press.*
37. THIS D., THIS P. 1993. Les principaux types de marqueurs moléculaires applicables à la sélection pour la tolérance à la sécheresse. Avantages et limites. In: Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Colloque INRA-ENSA-AGROPOLIS, Montpellier (France), Colloque INRA n°64, 405-422.
38. XU X., MONNEVEUX P., DAMANIA A.B., ZAHARIEVA M. 1994. Variation of salt tolerance related traits in wheat and Aegilops.IPBGR Plant Genetic Newsletter.

A13 : Les pôles régionaux et la recherche partagée en réseau : une stratégie pour intégrer les biotechnologies végétales dans l'amélioration des systèmes de culture au Maroc

EL JAAFARI S.[1], FAGROUD M.[2], EL HADRAMI I.[3], PICARD E.[4]

[1] Laboratoire de Biotechnologies et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismaïl, BP 4010 Béni M'hamed, 50000-Meknès, MAROC.

[2] Centre de Calcul, École Nationale d'Agriculture, BP S/40, 50000-Meknès,MAROC.

[3] Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, BP S/15, 40000-Marrakech, MAROC.

[4] Laboratoire de Morphogenèse Végétale Expérimentale, Bât. 360, Université de Paris Sud XI, 91405 Orsay, Cedex, FRANCE.

INTRODUCTION

Les biotechnologies présentent des potentialités immenses comme facteur d'amélioration de la production végétale. Les biotechnologies végétales classiques (micropropagation conforme, assainissement viral via la vitroculture de méristèmes) sont déjà riches en réalisations au Maroc. Les biotechnologies liées à la sélection requièrent des infrastructures plus complexes et une formation plus poussée des personnels et enfin, une intégration dans des approches privilégiant l'interdisciplinarité, seule garante d'un décloisonnement nécessaire pour favoriser l'application de ces biotechnologies aux besoins prioritaires du pays. En effet, les systèmes de production agricole font partie intégrante du tissu social, économique, politique et technologique ; on ne peut donc analyser la problématique de l'application des biotechnologies à l'agriculture sans considérer l'ensemble des filières de production.

L'intégration des biotechnologies dans la recherche agronomique passe d'abord par le renforcement de la structure de cette recherche, par la création de pôles performants de recherche à vocation régionale, par l'institution de réseaux thématiques de « recherche partagée », par la maîtrise de certains outils essentiels (techniques moléculaires et cellulaires, techniques de culture *in vitro*, technologies de l'information scientifique), par la formation à la recherche et la mobilité des chercheurs.

LA STRUCTURATION EN PÔLES RÉGIONAUX

Les pôles régionaux présentent l'avantage de répondre aux spécificités éco-régionales (Doulou, 1994). Lorsque l'on étudie les problèmes de l'environnement par exemple, on peut répartir le Maroc en différentes zones écologiques en fonction de certains critères : zones côtières, zones montagnardes, zones arides, oasis, etc. Dès lors, il est possible de construire des stratégies de recherche éco-régionales autour de projets scientifiques bien identifiés répondant aux particularités de chaque zone. Les pôles régionaux, par le fait qu'ils s'intéressent à des priorités bien définies et d'intérêt

communautaire, sont un atout considérable pour réaliser une synergie d'intervention des institutions de recherche et des agences de financement.

Pour être érigé en pôle régional d'excellence, la structure concernée doit remplir les conditions suivantes :

- Abriter une équipe de chercheurs nationaux confirmés, éventuellement renforcée par des non-nationaux de haut niveau accueillis dans le cadre de la coopération bilatérale (cas du projet CIERSACO Gembloux-Meknès) ou multilatérale.
- Posséder des infrastructures et équipements adaptés.
- Être en mesure d'accueillir des chercheurs ou stagiaires, disposer de facilités de communications ; être situé dans un environnement culturel, social et économique approprié (Jlibene et al., 1997).
- Poursuivre des programmes de recherche d'intérêt commun, qui visent l'amélioration des systèmes de culture, la constitution de bases de données (Fagroud et al., 1997) et la contribution à la formation et à l'information des chercheurs (Ouahbi et El Jaafari, 1997).

Pour le développement et l'intégration des biotechnologies dans l'amélioration des systèmes de culture, le pôle régional devrait rassembler sur un même site les trois composantes essentielles que sont l'appareil de formation, l'appareil de recherche et l'appareil de production. Même si l'autonomie des structures de formation et/ou de recherche semble indispensable et s'il « ne suffit pas que des organismes se trouvent au même endroit pour qu'ils travaillent nécessairement ensemble », le rapprochement physique des structures d'enseignement/recherche et de production (agricole et agro-alimentaire) est l'une des conditions du développement des biotechnologies. Il ne s'agit pas de faire des recherches en biotechnologies pour ensuite, à posteriori, chercher les partenaires, mais de coordonner recherche et développement dès la planification de la politique générale de recherche au niveau du pôle. La coordination doit aussi intervenir entre recherche, formation et diffusion (vulgarisation). D'où l'importance des organismes d'interface (exemples : Centre National des Études et Recherches pour la Vulgarisation CNERV-Meknès, Service Recherche-Développement SRD de l'INRA-Meknès).

LA RECHERCHE PARTAGÉE EN RÉSEAU

L'analyse des difficultés qui ont présidé au développement des réseaux thématiques de recherche partagée sont souvent les mêmes, à savoir : l'isolement des chercheurs, insuffisance des moyens humains et matériels, aptitude à la recherche faible pour rivaliser avec les équipes ayant une notoriété internationale, mauvaise circulation de l'information,... Le réseau thématique a été la réponse nécessaire et adéquate que les chercheurs ont inventée pour coopérer (Mbaye, 1994).

La structuration en réseau de recherche/formation constitue une avenue à exploiter au niveau marocain pour bon nombre de raisons :

- Favoriser les échanges entre chercheurs et renforcer les équipes nationales et leur donner une dimension internationale.
- Promouvoir l'acquisition de connaissances scientifiques (dont les biotechnologies) et l'utilisation des résultats.
- Répondre aux spécificités éco-régionales et favoriser l'évolution des travaux dans différentes conditions agro-climatiques et socio-économiques.
- Créer une synergie des institutions de recherche et des agences de financement et favoriser la concertation avec les institutions du Nord et du Sud.

La coopération dans le cadre d'une recherche partagée en réseau doit servir les intérêts de chacun des partenaires. Pour qu'il y ait recherche partagée, il faut que chaque laboratoire participant à une action soit informé et associé intellectuellement à toutes les phases opératoires, tout en participant matériellement à certaines étapes de leur déroulement. Le partenariat doit être privilégié non seulement au moment de la conception de programmes, mais également lors du traitement des données et de la publication des résultats.

Dans ce sens, l'organisation des Systèmes d'Information permettent de mettre en valeur les ressources du pôle ou du réseau thématique de recherche en répertoriant les productions des recherches scientifiques dans le domaine concerné, en facilitant une meilleure circulation de l'information (résultats, approches, thèmes de recherches partagées, partenaires potentiels de projets,...), en rendant accessibles les productions du réseau et permettant ainsi leur reconnaissance dans l'espace scientifique.

Pour cela, un Système d'Information devrait développer deux composantes essentielles et complémentaires (Fagroud et al., 1997) : 1) Un Service Documentaire assurant ses services aux chercheurs et fournissant les services de recherche auprès des grandes bases de données internationales et l'accès aux documents primaires, et créant une base de données bibliographiques continuellement actualisée sur les différents thèmes et disciplines se rapportant aux programmes de recherche concernés. 2) Une Base de Données sur les projets et sur les organisations de recherche ou de financement en rapport avec les sujets traités et le renforcement de son rôle en tant que point local du Système d'Information sur l'agriculture.

QUELQUES CAS DE FIGURES

La vision de pôle régional est partagée et déjà mise en œuvre par les institutions d'enseignement et de recherche de la région de Meknès. Nous citerons ainsi, comme exemple, l'initiative propre de mise en place d'un pôle régional de recherche et de formation à Meknès et ses liens de collaboration dans le cadre de réseaux thématiques internationaux (Méditerranéens, Francophones), et enfin les thèmes de recherche/formation de ces actions et la part de la composante biotechnologies dans ces programmes.

AGROPOLE - Meknès

La création d'un pôle régional d'excellence à Meknès (AGROPOLE - Meknès) pour la recherche-développement des régions du bour et de la montagne est justifiée par la position géographique de cette ville et les institutions qui y sont représentées. En effet, Meknès se situe au centre de la zone à pluviométrie favorable (> 450 mm) à haut potentiel de productivité, entre les chaînes du Moyen-Atlas et du Rif. Elle abrite des institutions d'enseignement (Université Moulay Ismaïl UMI, École Nationale d'Agriculture ENA, École Supérieure d'Horticulture ESH) de recherche (INRA, UMI, ENA) et de vulgarisation (Directions Provinciales d'Agriculture DPAs) agricoles. Le secteur de l'agro-alimentaire représente l'une des principales composantes de l'activité industrielle à Meknès (63 entreprises, 54 % de la production locale, 45 % des exportations locales). Toutes les composantes de la chaîne de développement agricole sont disponibles et opérationnelles : la formation et la recherche de base à l'amont, la recherche appliquée de nouvelles techniques au centre, et leur transfert à l'aval. l'UMI et l'ENA, en plus de la formation académique des universitaires et des ingénieurs agronomes, contribuent à la formation professionnelle dans le domaine de la biotechnologie par des programmes régionaux et à la recherche appliquée dans le

cadre d'une collaboration avec l'INRA. Un service Recherche-Développement (SRD) à l'INRA se charge des relations avec les organismes de développement (Jlibene et al., 1997).

Les objectifs de ce pôle sont :

1. Constituer une cellule de réflexion et d'analyse de la problématique de l'agriculture en Bour et en Montagne.
2. Définir des axes prioritaires de recherche s'appuyant sur des choix méthodologiques, des cultures modèles et développer une politique de relations extérieures vis-à-vis des institutions internationales. Ces programmes de recherche basés sur des approches intégrées devront s'inscrire dans le cadre de thèmes mobilisateurs : gestion de l'espace, des systèmes de production, protection de l'environnement... Les projets qui seront présentés au nom de la nouvelle entité auprès des bailleurs de fond devraient bénéficier d'une masse critique plus grande et d'une crédibilité accrue grâce à la réunion des 3 institutions : UMI, INRA et ENA de Meknès. Cette politique commune veillera cependant à sauvegarder une indispensable autonomie d'initiative des 3 institutions qui continueront à développer des projets plus spécifiques en fonction de leur expertise propre et des opportunités.
3. Privilégier une utilisation commune et rationnelle des infrastructures existantes. Le pôle définira également une politique coordonnée d'investissement et d'équipement de recherche qui devrait conduire à des économies.
4. Constituer une structure ouverte à d'autres institutions marocaines en permettant une utilisation des équipements et de l'expertise développée.

Projet CIERSACO - AGCD

Le projet est né d'une volonté de coopération régionale en vue de créer une synergie entre les différentes institutions de recherche et d'enseignement de la région de Meknès (AGROPOLE-Meknès). Ce projet vise la création d'un « Centre Interdisciplinaire d'Études de la Résistance aux Stress Abiotiques chez les Céréales et les Oléagineuses (CIERSACO) » dans la région de Meknès. Ce projet, financé par l'Agence Gouvernementale de la Coopération et du Développement (AGCD) Belge, implique la Faculté des Sciences de Meknès (FSM, Université Moulay Ismaïl) en interuniversitaire avec l'Ecole Nationale d'Agriculture de Meknès (ENAM), du côté marocain et, la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (FUSAGx) en interuniversitaire avec la Fondation Universitaire Luxembourgeoise (FUL), du côté belge. Le CIERSACO a comme programme la réalisation d'une approche intégrée d'amélioration de la tolérance aux stress abiotiques chez les céréales (blé dur, blé tendre, espèces apparentées) et les oléagineuses (tournesol, colza) qui intègre les approches morpho-physiologiques, les biotechnologies, le marquage moléculaire, l'agro-météorologie et les caractéristiques agronomiques au champ ainsi que la création d'une base de données pour une meilleure utilisation des ressources génétiques de ces espèces.

Programme AVICENNE

La politique de recherche-développement adoptée dans le cadre des programmes européens (ex. AVICENNE puis INCO-DC de la DGXII) privilégie deux notions clés : l'intégration et l'ouverture, ce qui permet à de nombreux chercheurs du Sud de participer aux réseaux mis en place avec le soutien de la Communauté Européenne. Nous citons comme exemple notre réseau Maghreb-Belgique de recherche sur le

thème « amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau par le blé en conditions de sécheresse et de salinité (Programme AVI-CT93-0007). Ce projet implique l'Université Moulay Ismaïl de Meknès (Maroc), l'Université de Constantine (Algérie), INRA-Tunis (Tunisie) et la Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique).

Réseau MED-EMMA - Programme MED-CAMPUS

L'espace méditerranéen est un espace de diversité et de complexité, mais en même temps, espace commun à l'image de la Francophonie. Le réseau Méditerranéen « EMMA » a été créé pour répondre à un besoin d'une composante formation à caractère multidisciplinaire et multi-institutionnel complémentaire aux activités de recherche abordées par notre laboratoire et les laboratoires partenaires des autres réseaux. Ce réseau soutenu financièrement par la Commission Européenne (DG1B) a pour objectif spécifique l'intégration des biotechnologies et leurs apports aux autres outils de gestion de l'environnement des zones fragiles méditerranéennes. Il implique différentes institutions du Sud et du Nord de la Méditerranée : Algérie, Belgique, Egypte, France, Maroc, Palestine, Syrie, Tunisie

Réseau SEWANA

Le réseau SEWANA (Afrique du Nord, Asie Mineure, Europe du Sud) constitué en 1994, a développé un programme de recherche intégré sur le blé dur visant l'amélioration génétique de la tolérance aux stress abiotiques et biotiques et de la qualité du grain. Les recherches menées au sein de ce réseau font appel aux outils les plus récents dans les domaines de la physiologie végétale et des biotechnologies en visant leur intégration au sein des programmes d'amélioration. Le réseau regroupe aujourd'hui près de 70 chercheurs appartenant à des institutions diverses (ICARDA, Universités, INRA,...) de 15 pays différents (Picard, 1997).

PERSPECTIVES

La mise en commun des potentiels dans le domaine de l'enseignement supérieur et de la recherche est déjà une pratique expérimentée à Meknès. Il reste à consolider et à optimaliser les projets communs allant dans ce sens. Pour vaincre l'isolement des chercheurs et afin de viser la performance dans la recherche, la production et la circulation des informations scientifiques et techniques s'avèrent nécessaires pour la région. À cet égard, la réalisation de projets de recherche partagée, au sein des réseaux thématiques, devrait répondre à cette attente. La réalisation de ces divers projets d'intérêt commun nécessite la mise en place d'un partenariat approprié et un financement diversifié. À cet effet, il convient de créer une synergie entre les soutiens déployés par le gouvernement, les organismes internationaux, à caractère bilatéral ou multilatéral, ainsi que les opérateurs privés ; et cela en vue de susciter une masse critique en ressources humaines et en matériels techniques, condition indispensable pour tendre vers l'excellence dans les entreprises de recherche.

Bibliographie

1. DOULOU V. (1994). Les pôles régionaux africains : une réponse adaptée. In « Assises francophones de la recherche », 1 et 2 décembre 1993, Abidjan. AUPELF-UREF ed , pp : 141-147.
2. FAGROUD M., EL BACHIRI A. & EL JAAFARI S. (1997). Apports des Systèmes d'Information à la recherche partagée dans les domaines de l'agriculture et de la gestion de l'environnement : cas du pôle régional de Meknès. VIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Végétales - Génie Génétique des Plantes de l'AUPELF-UREF sur le thème « Biotechnologies végétales, amélioration des plantes et sécurité alimentaire », du 30 juin au 4 juillet 1997, Orsay, France.
3. JLIBENE M., EL JAAFARI S. & EL MEKKAOUI M. (1997). Un pôle régional d'excellence pour la recherche - développement de l'agriculture du Bour et de Montagne. VIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Végétales - Génie Génétique des Plantes de l'AUPELF-UREF sur le thème « Biotechnologies végétales, amélioration des plantes et sécurité alimentaire», du 30 juin au 4 juillet 1997, Orsay, France.
4. MBAYE N. (1994). L'agronomie en réseaux : une réponse pour la recherche pour le développement. In « Assises francophones de la recherche » 1 et 2 décembre 1993, Abidjan. AUPELF-UREF ed., pp : 81-84.
5. OUAHBI A. & EL JAAFARI S (1997). Intégration des Biotechnologies dans la gestion des écosystèmes fragiles Méditerranéens : un exemple de formation en réseau. VIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Végétales - Génie Génétique des Plantes de l'AUPELF-UREF sur le thème « Biotechnologies végétales, amélioration des plantes et sécurité alimentaire», du 30 juin au 4 juillet 1997, Orsay, France.
6. PICARD E. (1997). Rapport d'activités et prospectives du réseau thématique de recherche partagée « Biotechnologie : Génie génétique des plantes » de l'AUPELF-UREF, Paris, 1997.

A14 : Contribution des biotechnologies végétales à la sécurité alimentaire en zones sahéliennes

SIDIKOU DJERMAKOYE SEYNI R.
Enseignant Chercheur à la Faculté des Sciences de l'Université A. M. de Niamey

INTRODUCTION

Le développement et l'avenir de tout pays passe par sa sécurité alimentaire, donc par l'amélioration et le développement de ses productions végétales. Cette sécurité alimentaire, dans nos pays en voie de développement, en particulier ceux de la zone sahélienne, repose d'une part sur le développement de notre production végétale, d'autre part sur la conservation et la sauvegarde de nos ressources génétiques.

Les biotechnologies végétales peuvent apporter leur contribution à tous les niveaux de cette production végétale, de même qu'au niveau de la conservation des ressources phytogénétiques.

Nous avons entrepris quelques recherches dans certains domaines pour voir dans quelles mesures on peut intégrer ces méthodes biotechnologiques à l'amélioration et à la conservation de nos productions végétales.

AU NIVEAU DES CULTURES IRRIGUÉES

En zone sahélienne, plus particulièrement au Niger, la productivité agricole rencontre d'énormes problèmes climatiques (insuffisance des précipitations, érosion, désertification), sanitaires (attaques parasitaires de tous ordres : entomologiques, mycosiques, microbiennes, bactériennes, virales, etc.), économiques, rendant ainsi aléatoire la sécurité alimentaire.

Pour combler le déficit alimentaire issu des cultures pluviales, un accent est mis sur le développement des cultures irriguées dont les cultures maraîchères (dites de contre-saison).

Or, grâce aux méthodes biotechnologiques, on peut procéder à un meilleur développement de ces cultures irriguées par une amélioration aussi bien qualitative (assainissement des plants par la culture de méristèmes), que quantitative (multiplication végétative, micropropagation).

Les cultures maraîchères

• *Intégration des biotechnologies au développement de la culture de pomme de terre (Solanum tuberosum) en zones sahéliennes*

- Pourquoi la pomme de terre?

Dans l'objectif de la recherche d'une plus grande diversité alimentaire possible, la consommation de la pomme de terre vient en appui à celles d'autres tubercules comme le manioc (*Mannihot esculentus*), la patate douce (*Ipomea batatas*), les ignames (*Dioscorea sp.*), etc.

Au Niger, le manioc et la patate douce sont déjà bien cultivés et à la portée de toutes les couches de la population. Les ignames, bien que beaucoup consommées, ne

peuvent pas être cultivées dans ces régions sahéliennes faute d'un climat humide de type équatorial nécessaire à leur développement.

La culture de la pomme de terre, déjà pratiquée au Niger, a besoin d'être développée. Le développement de cette culture permettrait d'améliorer les rendements, de baisser les coûts de production et de vente et par conséquent, de pouvoir mettre cet aliment à la portée de toute la population nigérienne.

- Situation actuelle de la culture de pomme de terre au Niger

La culture de la pomme de terre est pratiquée depuis longtemps à échelle réduite dans l'Aïr et dans les vallées de la zone Sud humide du pays. Il s'agit d'une culture essentiellement maraîchère commercialisée dans les villes.

Les superficies cultivées et les rendements augmentent tant bien que mal au cours des années. C'est ainsi que les surfaces cultivées sont passées de 55 ha (en 1981) à environ 1000 ha ces dernières années, avec un rendement moyen de 12 tonnes à l'hectare. Cependant, la production de pomme de terre reste en dessous de celle du manioc (200 000 tonnes/an) et de celle de la patate douce (50 000 tonnes/an).

Toutes les variétés cultivées sont importées même si certaines, en raison de leur ancienneté d'implantation, sont considérées comme locales (la variété de Tabelot dans l'Aïr est une Bintje bien adaptée à la localité). Les semences proviennent de France, des Pays-Bas, du Nigeria, et d'autres pays voisins. Les variétés cultivées sont la Bintje, la Désirée, la Claustar, principalement.

En dehors de la zone de l'Aïr qui peut produire la pomme de terre pratiquement toute l'année, les autres zones de production (vallées du Sud) démarrent les cultures avec la saison fraiche (novembre, décembre) pour récolter en février ou mars. L'exigence de l'eau à toutes les phases du cycle de la pomme de terre (surtout pendant la tubérisation) fait que la culture est nécessairement irriguée.

La culture de la pomme de terre réussit davantage en sol meuble, sablonneux, bien drainé et dont le pH se situe entre 5 et 6,5. Les sols trop acides favorisent la formation de gales. Ce qui nous amène aux pathologies et pathogènes rencontrés en conditions nigériennes, se résumant en :

- maladies fongiques (alternariose, fusariose) ;
- maladies bactériennes (bactériose vasculaire) ;
- maladies virales (virus Y) ;
- attaques de nématodes à galle (*Méloïdogynae*) ;
- attaques d'insectes (pucerons, chenilles).

Cependant, le principal problème de la production de pomme de terre au Niger réside dans la conservation des tubercules. En effet, les fortes chaleurs associées à des conditions de stockage rudimentaires et inadaptées occasionnent des pourritures et des pertes très élevées, forçant les producteurs à brader leur récolte dans un minimum de temps, quitte à racheter de nouvelles semences en début de chaque saison.

- Nécessité d'intégration des biotechnologies

Compte tenu de l'importance de la pomme de terre et des problèmes que rencontre sa production en zones sahéliennes, un accent particulier est en train de se mettre en place, en vue du développement de cette culture dans ces régions sahéliennes. En effet, la pomme de terre peut y constituer une production de diversification très intéressante en raison de son cycle végétatif court et de son potentiel de production important.

Actuellement, les pays du Sahel dépendent de l'extérieur pour leur approvisionnement en semences (plants de qualité) qui, compte tenu du coût du produit, surtout du transport, arrivent à des prix difficilement abordables.

Cependant, avec l'évolution des biotechnologies végétales et notamment la maîtrise de la multiplication *in vitro* (microboutures, microtubercules), il paraît possible de concevoir la mise sur pieds d'une production locale autonome de semences, de manière à organiser, adapter et maîtriser un système de production allant du laboratoire (multiplication *in vitro*) au champ.

Les cultures fruitières

Dans le cadre du projet d'amélioration et de valorisation de nos fruitiers, aussi bien cultivés que spontanés, nous envisageons **l'intégration des méthodes biotechnologiques**, en complément des méthodes classiques ou traditionnelles.

Pour un début d'investigations, nous nous sommes limités, pour le moment, à deux espèces, à savoir :

- *Phoenix dactylifera* (Palmier dattier), une espèce connue et déjà cultivée en plantation ;
- *Parinari macrophylla,* syn. *Neocarya macrophylla* (Gamsa ou Gawassa), une espèce spontanée et consommée en cueillette par nos populations.

• *Méthode de travail*

La méthode de travail que nous avons adoptée est la suivante :

- Étude bibliographique, pour mieux connaître le matériel, voir ce qui a déjà été réalisé et ce qui peut encore se faire.
- Étude biogéographique pour connaître la répartition des espèces dans le milieu régional et sous-régional.
- Sélection agronomique des variétés les plus intéressantes, en collaboration avec les services de vulgarisation.
- Échantillonnage et prélèvement d'organes et/ou d'explants sur les pieds sélectionnés.
- Travaux de pépinières (germinations, bouturages, greffages).
- Travaux de laboratoires (cultures de tissus, micropropagation).
- Adaptation sur le terrain.
- Vulgarisation.

• *Intégration des biotechnologies au développement de la phoeniciculture*

- Quelques caractéristiques biologiques et économiques du Palmier dattier.

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera*, est une Monocotylédone appartenant à la famille des *Palmaceae.*

Originaire d'Afrique du Nord, c'est une espèce d'oasis et de quelques zones agricoles. Au Niger, elle se rencontre surtout dans les oasis du Nord (Aïr, Djado) et de l'Est (Kawar, Manga), ainsi que dans les vallées du Sud (Dallols, Goulbi). Le palmier dattier est spécifique des cuvettes ensablées à nappe phréatique peu profonde.

La plante a un port ligneux, monocaule, à feuillage persistant. La tige, de même que les feuilles ou palmes, très grandes, a également un intérêt économique fort appréciable pour les populations (construction des habitats, lutte contre l'ensablement).

Espèce dioïque, les pieds mâle et femelle sont souvent très éloignés l'un de l'autre. La fécondation, anémophile, est aléatoire dans les conditions naturelles.

Les fruits ou dattes, des drupes dont la chair est sucrée, représentent la partie la plus importante de la plante.

En plus de son intérêt économique, le palmier dattier contribue à améliorer l'environnement par sa présence embellissante.

- La phoeniciculture au Niger

La multiplication du palmier dattier est, jusqu'à aujourd'hui, effectuée selon deux modalités :

- la multiplication par semis de noyaux ;
- la multiplication végétative par rejets.

La multiplication par semis et germination de noyaux, en plus de sa lenteur (l'obtention du sujet productif nécessite une dizaine d'années), donne naissance à des peuplements très hétérogènes en densité et en qualité. En effet, non seulement il est impossible de déterminer le sexe du pied avant sa première floraison (au bout de 10 ans), mais encore l'hétérogénéité des plants originaux provoque une forte hétérogénéité de la descendance. La reproduction des caractéristiques du pied-mère devient alors aléatoire.

La multiplication végétative par rejets est la plus utilisée. Le rejet, qui se développe le plus souvent à la base du tronc ou quelquefois à la partie supérieure, une fois prélevé et transplanté, reproduit exactement les caractéristiques du pied-mère. Ce qui constitue un avantage supplémentaire par rapport à la multiplication par semis car conduit à une population identifiée et homogène. D'autre part, la reprise est beaucoup moins longue.

La nutrition du palmier dattier nécessite beaucoup d'eau (irrigation permanente aux stades jeunes des plants) et de fumure azotée.

- Nécessité d'intégration des biotechnologies à la phoeniciculture

Bien que connu et cultivé depuis fort longtemps dans certaines régions du Niger (le Manga à l'Est, l'Aïr au Nord, certaines vallées du Sud), le palmier dattier pose d'énormes problèmes sur le plan cultural.

Au Niger, les dernières recherches d'ordre agronomique menées par le projet Palmeraie - Diffa (Jahiel, 1989) ont conduit à l'une des conclusions suivantes :

" La problématique liée à la multiplication du palmier dattier ne peut trouver d'issues favorables que par l'introduction d'une technique nouvelle, la culture *in vitro*, en association avec l'étude menée sur les cultivars locaux. »

En effet, l'introduction puis la multiplication du palmier dattier ont toujours été réalisées de façon anarchique ou presque, en utilisant les noyaux et les rejets comme uniques organes de reproduction. Ces techniques ont donné naissance à des peuplements très hétérogènes, de densité et de qualité incompatibles avec une pratique correcte de la phoeniciculture.

La réorganisation et la rénovation des palmeraies doivent nécessairement passer par l'introduction de techniques de multiplication faisant intervenir la notion de sélection des sujets (sexe, qualité). La multiplication par culture *in vitro* ou micropropagation répond parfaitement à ces préoccupations, aussi bien sur le plan qualitatif que quantitatif.

Le projet d'intégration des méthodes biotechnologiques au développement de la phoeniciculture au Niger consistera surtout à la micropropagation et à l'adaptation de cultivars sélectionnés de palmier dattier.

- Travaux biotechnologiques déjà effectués dans le domaine de la phoeniciculture

Beaucoup de travaux ont été réalisés (et continuent de l'être) dans les pays d'Afrique du Nord, notamment en ce qui concerne la production de vitroplants par plusieurs voies dont :

- la régénération des plantes par culture de tissus avec bourgeonnement ;
- la régénération des plantes par embryogenèse somatique à partir de cals ou de suspensions cellulaires.

Dans la plupart des cas, ces cultures *in vitro* partent de méristèmes pour deux raisons principales :

- la capacité de multiplication rapide des cellules méristématiques ;
- l'assainissement des plantes.

Ces micropropagations sont déjà appliquées à une échelle industrielle dans les pays d'Afrique du Nord, donnant naissance à des palmeraies hautement performantes.

- Résultats attendus

Les résultats attendus consistent en une adaptation des microplants au Niger pour une meilleure exploitation de nos palmeraies.

En effet, une fois qu'on dispose de plants sélectionnés et identifiés, on peut aisément mettre en place, et d'une façon bien rationnelle (par exemple un pied mâle entouré de plusieurs pieds femelles), des palmeraies parfaitement structurées, saines, homogènes et par conséquent hautement productives. Ceci en plus de la multiplication végétative par rejets, moins coûteuse et pratiquée actuellement, mais qui rencontre des problèmes de pathologies et d'insuffisance de pieds.

• *Intégration des biotechnologies à l'amélioration et à la valorisation de nos fruitiers spontanés : cas du parinari macrophylla*

- Caractéristiques biologiques de la plante

Parinari macrophylla est une Dicotylédone de la famille des *Rosaceae.*

Son aire de répartition biogéographique en Afrique s'étend de la région guinéo-congolaise à la région soudano-zambézienne. Au Niger, cette espèce se cantonne dans les cuvettes du Sud-Ouest, les Dallols, vallées ensablées de la zone soudanienne, à nappe phréatique peu profonde.

C'est une espèce ligneuse dichotomique se présentant sous la forme de petit arbre à feuillage persistant et restant vert toute l'année, même en saison sèche. Les feuilles possèdent un pétiole court et un limbe ovale à base largement arrondie et subcordée. La pubescence, d'un roux ferrugineux, recouvre toutes les parties jeunes de la plante, y compris les jeunes fruits. Sur le plan de la biologie florale, l'espèce est hermaphrodite à fécondation autogame ou/et allogame.

Les fruits sont des drupes de 5 à 8 cm de hauteur, dont la pulpe est riche en glucides et les amandes (au nombre de 2 par noyau) très oléagineuses.

- Intérêt économique et nécessité d'intégration des biotechnologies végétales

Plante spontanée à usage alimentaire, *Parinari macrophylla* présente de multiples intérêts dont :

- un apport alimentaire et nutritif appréciable grâce à une pulpe riche en glucides et des amandes oléagineuses ;

- un apport fourrager permanent grâce à un feuillage persistant, abondant et consommable par les animaux ;
- une préservation de l'environnement et un moyen de lutte contre la désertification grâce à son feuillage persistant et touffu et vert toute l'année, d'où une contribution à l'agroforesterie.

Cependant, *Parinari macrophylla* reste une plante dont :

- les fruits sont de cueillette,
- la régénération (par germination naturelle) est très lente, pratiquement empêchée au cours de ces dernières années marquées par un déficit hydrique de plus en plus accentué,
- la propagation est fort limitée.

En effet, le noyau du fruit, très dur et indéhiscent, ne permet pas une germination aisée des graines. La coque du noyau ne se dégrade et ne se décompose, par pourrissement, que dans un sol humide.

Pour remédier à cette difficulté de germination, on peut :

- procéder à une germination directe des graines en pépinières, après les avoir débarrassées de leur coque ;
- procéder à une micropropagation des variétés sélectionnées, en association avec les méthodes précédentes ;

et peut-être aboutir ainsi à une augmentation de la densité des pieds et des fructifications.

Les méthodes biotechnologiques appliquées aux plantes alimentaires en général et aux plantes alimentaires spontanées (dont *Parinari macrophylla*) en particulier, permettraient une régénération beaucoup plus rapide de celles-ci et une plus large diffusion grâce à la micropropagation.

À long terme, on pourrait également envisager un programme d'amélioration et de valorisation de ces fruitiers spontanés, ce qui pourrait contribuer aussi bien à la sécurité alimentaire qu'au développement de l'agroforesterie.

AU NIVEAU DE LA CONSERVATION ET DE LA SAUVEGARDE DES RESSOURCES PHYTOGÉNÉTIQUES

Nos ressources phytogénétiques, qu'elles soient forestières, fourragères, médicinales, alimentaires spontanées ou alimentaires cultivées, ont besoin d'être conservées et sauvegardées le plus possible et par tous les moyens adéquats.

Les problèmes rencontrés pour leurs conservations, aussi bien *in situ*, sur le terrain, qu'en stockage sous des formes variées, sont multiples et importants.

En complément des méthodes traditionnelles de conservation, insuffisantes, les méthodes biotechnologiques peuvent apporter une contribution appréciable à la conservation et à la sauvegarde de nos ressources phytogénétiques.

Problèmes rencontrés

Les problèmes rencontrés se situent surtout à deux niveaux :

- **la conservation des récoltes issues des cultures maraîchères,**
- **la disparition progressive de nos réservoirs de gènes que sont nos plantes sauvages, spontanées.**

• *Les problèmes à moyen terme*

Ils concernent le premier niveau. Compte tenu d'une part, du caractère " frais " (organes pleins d'eau) des produits maraîchers (légumes, tubercules), d'autre part de nos conditions climatiques et de nos moyens économiques limités, ces problèmes peuvent se résumer ainsi qui suit.

- Les températures sont très élevées la plus grande partie de l'année (de mars à novembre, période sèche et chaude faisant suite à celle sèche mais froide, de décembre à février, des cultures maraîchères).
- Les attaques parasitaires sont de tous ordres : attaques de rongeurs, d'insectes, de champignons, de bactéries, de virus, etc.
- Les locaux de stockage sont inadaptés, insuffisants, voire inexistants.
- L'énergie électrique nécessaire au fonctionnement de chambres froides n'est pas à la portée des producteurs.

Tous ces problèmes, seuls ou en association, entraînent à moyen terme des dégradations des réserves alimentaires aboutissant à des pertes de rendement énormes.

• *Les problèmes à long terme*

Ils se situent au second niveau et leurs conséquences sont à plus ou moins long terme. En effet :

- l'insuffisance des précipitations entraînant le dessèchement des plantes ;
- l'érosion hydrique due à une mauvaise répartition des pluies (la saison des pluies, très courte, ne dure que trois à quatre mois au cours desquels il tombe trop d'eau en si peu de temps. Le ruissellement, intense, emporte tout sur son passage) ;
- l'érosion éolienne, dénudant certains sols, ensablant d'autres, accentuant ainsi l'avancée du désert.

Tout ceci tend à réduire les populations forestières, à entraîner une disparition progressive des espèces sauvages, spontanées, qui constituent notre richesse naturelle.

Tous les moyens doivent donc être mis en œuvre afin de conserver cette richesse naturelle. Plusieurs contributions sont nécessaires, parmi lesquelles celles, importantes et très appréciables, des biotechnologies végétales.

Contribution des méthodes biotechnologiques

• *À moyen terme*

La conservation à moyen terme des plantules *in vitro* consiste à diminuer la vitesse de croissance des cultures de manière à pouvoir réduire la fréquence des repiquages. Ce ralentissement de croissance des tissus végétaux est possible grâce à plusieurs techniques telles que :

- les cultures à basses températures (20°C en moyenne) pour toutes les espèces en général ;
- la diminution du potentiel hydrique par adjonction d'hydrates de carbone (saccharose, mannitol) au milieu de culture, pour les espèces maraîchères (manioc, patate douce, pomme de terre, etc.) ;
- l'emploi d'inhibiteurs de croissance tels que l'acide abscissique utilisé à faible dose (5mg/l pour la pomme de terre par exemple).

Grâce à ces méthodes de conservation à moyen terme, on pourrait tenir en permanence à la disposition des agriculteurs, des plants sains et prêts à l'emploi.

Dans le cas de la phoeniciculture par exemple, la micropropagation et la conservation de plantules *in vitro* permettent de produire et de stocker des plants bien identifiés, sélectionnés et indemnes de maladies, en vue de la mise en place de plantations homogènes, bien structurées, générant par conséquent des productions hautement améliorées aussi bien en quantité qu'en qualité.

Au niveau des cultures maraîchères, la micropropagation et la conservation à moyen terme des plantules apporteraient une contribution encore plus immédiate et plus permanente car les besoins en plants sont plus importants en nombre et en fréquence. En effet, les souches saines sorties de l'*in vitro* seraient multipliées en serres sur deux ou trois cycles avant d'être livrées aux producteurs de produits de consommation. Cette disponibilité permanente de plants pourrait en outre « allonger » la saison maraîchère au moins pour les espèces qui ne sont pas très sensibles au froid.

Enfin, cette conservation à moyen terme pourrait également être utilisée pour la sauvegarde de nos plantes spontanées et la reconstitution de nos aires forestières.

- A long terme

La conservation à long terme s'effectue à très basse température (-196°C) dans l'azote liquide : c'est la cryoconservation. Elle est utilisée pour la conservation des cals, des ovules, des embryons zygotiques, ou somatiques, des suspensions cellulaires, des protoplastes.

Le principe de la cryoconservation repose sur la congélation du matériel végétal sans léser les cellules. Cette congélation est progressive et s'effectue en deux étapes :

- refroidissement progressif jusqu'à -40°C, pour permettre aux cellules de résister ultérieurement à une congélation encore plus forte (celle dans l'azote liquide) ;
- congélation directe à -196°C dans l'azote liquide, en présence de substances protectrices comme le diméthylsulfoxide (DMSO), le glycérol, les sucres tels que le sorbitol, la proline, le polyéthylèneglycol (PEG).

Malgré son coût encore plus élevé que celui de la conservation à moyen terme, la cryoconservation pourrait également apporter sa contribution pour les cas dont c'est nécessaire. Par exemple pour la sauvegarde et la conservation à long terme des espèces sauvages ne produisant pas de graines viables au stockage aisé, ou des espèces dont les graines ont une durée de vie limitée (*Phoenix dactylifera, Parinari macrophylla*).

Nous pourrons également sauvegarder nos ressources phytogénétiques spontanées qui constituent de véritables réserves de gènes porteurs de résistance ou de caractères ne faisant pas encore l'objet d'une sélection. La sauvegarde de cette richesse naturelle (malheureusement en voie de disparition) est d'une nécessité primordiale et doit faire partie de nos préoccupations les plus urgentes car la biomasse se dégrade de plus en plus (à une vitesse inquiétante) dans nos régions sahéliennes.

CONCLUSION

Malgré un coût d'investissement certainement élevé au départ mais progressivement amorti, nous espérons, par l'intégration des biotechnologies végétales à nos méthodes classiques de cultures et de conservations des ressources phytogénétiques, aboutir à :

- un meilleur développement de nos cultures ;
- une régénération plus rapide et une valorisation de nos plantes spontanées ;
- une amélioration de notre potentiel alimentaire et nutritif ;
- une autosuffisance alimentaire et au-delà, une sécurité alimentaire.

Nous espérons également que l'évolution future des recherches au sein des réseaux de biotechnologies végétales aboutirait à la création de centres spécialisés dans ces domaines.

C'est une nécessité indispensable pour les pays en voie de développement comme le Niger de disposer au plus tôt d'un maximum de technologies de micropropagation nécessaires au développement de leur agriculture. Dans cet objectif, la mise en place d'un laboratoire de culture *in vitro* paraît plus que nécessaire. Au Niger, une telle structure répond à des besoins pressants, entre autres : l'accès à l'autosuffisance alimentaire, un renforcement de la couverture sanitaire, l'étude des problèmes posés par la désertification, etc.

L'impact des biotechnologies sur les productions végétales dans nos pays sahéliens en voie de développement est donc important, nécessaire et indispensable. Il doit aller de l'avant dans le but de contribuer à assurer une meilleure sécurité alimentaire, et par delà, un meilleur développement.

Compte tenu des coûts d'investissements relativement élevés, un soutien et un appui des structures compétentes est souhaitable pour l'intégration de ces biotechnologies végétales au développement de nos productions, dans le but d'asseoir une meilleure sécurité alimentaire.

Bibliographie

1. BERHAULT J. - 1967 - Flore du Sénégal - Ed. Clairafrique - Dakar.
2. BERNUS E., SIDIKOU A. H. & al. - 1980 - Les Atlas Jeune Afrique - Niger - Ed. J.A.
3. HERVE Y. & al. - 1995 - Intégration chez les plantes légumières, fruitières et ornementales - Biotechnologies végétales BV 9A - ENSA, Rennes - CNED / AUPELF-UREF - UNISAT.
4. HERVE Y. - 1987 - Biotechnologies et productions végétales - Techniques agricoles 2350.
5. IFAC - 1974 - Les recherches sur le Palmier dattier - Principaux résultats acquis.
6. JAHIEL M. - 1989 - Projet Palmeraie Diffa, Inst. Nat. de la Rech. Agro. du Niger (INRAN).
7. JOUAN B., TIVOLI B., SAMSON R. 1980 - Les principales maladies de conservation de la pomme de terre - La Pomme de Terre Française, 399, 207-214.
8. LE CORRE P., GRAVOUEILLE J.M., MARTIN M. - 1995 - La culture de la pomme de terre de conservation - Pomme de Terre - Collection ITCF - ITPT.
9. PEYRE de FABREGUES B. & LEBRUN J. P. - 1976 - Catalogue des plantes vasculaires du Niger - Etude botanique - I.E.M.V.T. - France.
10. PEYRE de FABREGUES B. - 1979 - Lexique des plantes du Niger - Inst. Nat. de la Rech. Agro. du Niger (INRAN) Niamey.
11. RADTKE W., RIECKMANN W. - 1991 - Maladies et ravageurs de la pomme de terre - Ed.Th. Mann Gelsenkirchen Buer.
12. ROUSSELLE P., ROBERT Y., CROSNIER J. C., éd., & al. - 1996 - La Pomme de Terre INRA Edition.
13. SIDIKOU A. H. & CHAMARD P.C. - 1976 - Géographie du Niger - Nouvelles Editions Africaines.
14. SIDIKOU SEYNI R., RAMBAUD C., DUBOIS J. & VASSEUR J. - 1992 - Somatic embryogenesis and plant regeneration from protoplasts - Plant Cell, Tissue and Organ Culture 29: 83-91 Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
15. SIDIKOU SEYNI R. - 1992 - La Biotechnologie végétale au service de l'Alimentation et de la Nutrition - (Séminaire sur une Politique Nationale d'Alimentation et de Nutrition - Niamey (Niger).

16. SIDIKOU SEYNI R. -1995 - Contribution des méthodes biotechnologiques à la conservation des ressources phytogénétiques - Premières Journées Biologiques de l'INRAN à Niamey - PNRA, Laboratoires associés INRAN / UAM.
17. SIDIKOU SEYNI R. - 1996 - Projet d'Amélioration et de Valorisation de deux fruitiers (un cultivé - un spontané) au Niger - PNRA , Laboratoires associés INRAN / UAM.
18. SOLTNER D. - 1996 - Les bases de la production végétale - Tome III: La plante et son amélioration - Collection Sciences et Techniques Agricoles.
19. TIVOLI B., JOUAN B., L'HOSTIS A., SANSON M.T., LEMARCHAND E. - 1979 - Influence de l'aménagement des locaux de conservation des tubercules de pomme de terre sur leur niveau de contamination et sur l'efficacité de la désinfection - INRA Le Rheu - Sciences Agronomiques - Rennes.
20. ZRYD J.P. - 1988 - Culture de cellules, tissus et organes végétaux: fondements théoriques et utilisations pratiques - Presses Polytechniques Romandes, Suisse.

A15 : Les biotechnologies végétales et la sécurité alimentaire en Afrique : Cas des ignames

ZOUNDJIHÉKPON J.[1] ; HAMON P.[2] ; BOCCON-GIBOD J.[3], TIO-TOURÉ B.[4]

[1] WWF - 08 BP 1776 - Abidjan 08 - Côte d'Ivoire

[2] Université Montpellier III- BP 5043 - 34 032 - Montpellier Cedex- France

[3] Institut National de l'Horticulture - 2, Rue le Nôtre - F-49045, Angers Cedex 01 - France

[4] UNESCO - 1, Rue Miollis - 75 015, Paris - France

INTRODUCTION

Les ignames sont des plantes alimentaires tropicales à tubercules dont plusieurs espèces sont d'origine africaine. L'Afrique de l'Ouest fournit plus de 95 % de la production mondiale des ignames, avec le Nigeria en tête, suivi de la Côte d'Ivoire et du Bénin. Les ignames revêtent des intérêts alimentaires, socioculturels et économiques considérables pour les africains. Même si l'igname figure au premier rang des cultures vivrières dans plusieurs pays africains, leur production ne suffit pas encore à assurer la sécurité alimentaire, qui constitue l'une des préoccupations majeures des autorités politiques de ces pays. Selon Okigbo (1991), certains pays s'endettent régulièrement avec l'importation de céréales pour nourrir leurs populations, tandis que d'autres comptent sur l'aide alimentaire internationale pour satisfaire leurs besoins internes.

L'igname est une plante à multiplication végétative. Sa culture au champ est confrontée à différentes contraintes telles que le faible taux de multiplication, des contraintes phytosanitaires comme l'anthracnose causée par *Colletotrichum gloeosporioïdes,* la mosaïque des ignames, les nématodes et en particulier *Scutellonema bradys*. De plus, une part importante de la récolte (environ 25 %) est utilisée comme semence pour l'année suivante. À ce jour, les variétés cultivées sont traditionnelles et ont été sélectionnées durant des millénaires par les paysans. Les méthodes classiques d'amélioration des plantes n'ont pas encore permis d'obtenir des variétés améliorées largement diffusées à l'image des autres cultures vivrières. Il faut rappeler que la recherche scientifique a longtemps négligé les ignames au profit des cultures d'exportation comme le cacaoyer, le caféier, le palmier à huile, le coton, et les céréales.

Pour lever certaines des contraintes liées à la culture de l'igname, et pour la description de la diversité génétique du matériel végétal, diverses méthodes biotechnologiques telles que le microbouturage, la culture du méristème ou de protoplastes sont utilisées par les chercheurs, permettant ainsi de résoudre les problèmes de gestion des ressources génétiques, de viroses ou d'amélioration des plantes.

LA GESTION DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES D'IGNAMES

La caractérisation du matériel végétal

Les isozymes révélés par électrophorèse sur gel d'amidon ont permis de caractériser des variétés traditionnelles d'ignames appartenant au complexe *D. cayenensis-D. rotundata* et les espèces sauvages apparentées (Hamon, 1987 ; Sèniou, 1993 ; Zoundjihékpon, 1993 et Dansi, 1995). Trois des systèmes enzymatiques étudiés, la phosphogluconate déshydrogénase, l'isocitrate déshydrogénase et la shikimate déshydrogénase permettent de différencier les ignames d'origine annuelle avec des bandes à migration rapide de celles des ignames pérennes avec des bandes lentes (Hamon, 1987). Grâce à l'analyse des descendances contrôlées, le déterminisme génétique des systèmes enzymatiques a été proposé et huit locus avec quatorze allèles ont été mis en évidence (Zoundjihékpon, 1993).

L'étude de la variation intraspécifique de l'ADN chloroplastique de *D. bulbifera* a permis de montrer que les génomes chloroplastiques d'Afrique et d'Asie ont divergé à une période ancienne et que le génome chloroplastique de type E qui est obtenu dans le Sud-Est asiatique apparaît être le plus ancien (Terauchi et al., 1989). De plus, ces travaux indiquent que quatre génomes chloroplastiques, trouvés dans les régions insulaires d'Asie, ont probablement dérivé indépendamment du génome de type E.

Les travaux par RFLP sur l'ADN chloroplastique et de l'ADN ribosomal pour quatorze cultivars du complexe *D. cayenensis-D. rotundata* et douze formes sauvages appartenant à sept espèces différentes a révélé cinq génomes A à E. Le génome A est commun au complexe *D. cayenensis-D. rotundata* et aux espèces sauvages *D. praehensilis, D. abyssinica* et *D. liebrechtsiana* tandis que les génomes B, C, D et E caractérisent respectivement *D. minutiflora, D. burkilliana, D. smilacifolia* et *D. togoensis* (Terauchi *et al.*, 1992). Conlan *et al.* (1995) ont essayé d'isoler et de caractériser des clones d'ADNc complémentaire des gènes codant pour la protéine de réserve principale, la dioscorine du tubercule de *D. cayenensis.*

Asemota et al (1996) ont montré que les analyses en RAPD permettent de décrire le polymorphisme intravariétal et interspécifique de cinq espèces d'ignames cultivées de la Jamaïque : *D. alata, D. cayenensis, D. esculenta, D. rotundata et D. trifida.* L'étude de *D. bulbifera* de différentes origines par des marqueurs RAPD a montré que les accessions d'origine africaine formaient un groupe distinct et isolé des groupes des accessions asiatiques et polynésiens qui étaient plus hétérogènes (Ramser et al., 1996). Les techniques de RAPD et de microsatellites ont permis à Ramser et al. (à paraître) de différencier *D. cayenensis* de *D. rotundata.*

L'étude des index d'ADN de plusieurs espèces sauvages et cultivées, grâce à la cytométrie en flux, confirme l'existence de séries polyploïdes au sein des formes cultivées. Chez *D. alata,* les index d'ADN varient d'un facteur 1 à 3, chez *D. bulbifera,* la variation est de 1 à 2,25 et de 1 à 2 chez *D. cayenensis-D. rotundata.* De plus, le génome commun à *D. abyssinica, D. cayenensis-D. rotundata, D. praehensilis* et *D. mangenotiana* est différent du génome de *D. togoensis* (Hamon et al., 1992).

Actuellement, la conservation au champ est la méthode la plus utilisée pour la conservation des ressources génétiques d'ignames. Mais, depuis plus d'une vingtaine d'années, une autre alternative est proposée avec la culture *in vitro.*

Le microbouturage et la conservation des ressources génétiques d'ignames

Le microbouturage nodal permet d'élever le taux de multiplication chez l'igname. Les conditions de culture (milieu de culture, température, lumière) peuvent varier d'une

espèce à une autre. *D. alata* est l'espèce alimentaire ayant fait l'objet de micropropagation dès les années 1970 (Ammirato, 1976 ; Mantell et Haque, 1977 ; Arnolin, 1980). Plusieurs autres espèces ont par la suite été multipliées par cette voie. Il s'agit de *D. rotundata* (Mantell et al., 1978), *D. esculenta* (Belarmino et del Rosario, 1971), *D. trifida* (Balagne, 1985) et *Dioscorea* sp (Peters, 1986). La culture de méristèmes est utilisée pour la micropropagation chez *D. opposita* (Niwata et al., 1983) et des régénérations des pousses feuillées à partir de bourgeons axillaires de 2 à 3 primordiums chez *D. alata* et *D. esculenta.* Cette dernière technique n'est pas adaptée à *D. rotundata* (Belarmino et del Rosario, 1991).

Avec le microbouturage de l'igname, on observe la tubérisation sous forme de microtubercules ou de microbulbilles (Ng, 1988). Mais plusieurs facteurs peuvent affecter ce phénomène physiologique ; la présence ou l'absence de régulateurs de croissance, la composition en saccharose ou en éléments minéraux du milieu de culture, la photopériode et la thermothérapie (Malaurie et Trouslot, 1995). L'effet de quelques régulateurs de croissance sur la tubérisation de *D. alata* et de *D. abyssinica in vitro* a été étudié par Jean et Cappadocia (1992).

Les plantules issues de micropropagation peuvent être utilisées pour la conservation des ressources génétiques d'ignames. Ainsi, plusieurs milliers d'échantillons sont conservés *in vitro,* à la fois en Afrique, en Europe et en Guadeloupe. Mais il existe des contraintes liées à l'utilisation de cette voie, comme l'obtention d'une bonne asepsie, la présence de composés phénoliques dans le milieu, la période de mise en culture (Malaurie et al., 1993 ; Zoundjihékpon et al., 1995). Pour éviter de nombreux repiquages associés à une croissance rapide de la plante, la température est abaissée à 16-20°C (Ng et Hahn, 1985). Actuellement, les principales vitrothèques d'ignames cultivées et sauvages existent au Nigeria, en Côte d'Ivoire, en France (ORSTOM-Montpellier) et en Guadeloupe.

La cryoconservation a été initiée il y a une quinzaine d'années chez l'espèce médicinale, *D. deltoïdea* (Butenko et al., 1984) et vient d'être appliquée avec succès aux espèces comestibles *D. alata* et *D. bulbifera* (Malaurie et Trouslot, 1996).

Les ressources génétiques d'ignames étant le plus souvent conservées avec des viroses, il faut prendre des dispositions pour se débarrasser de ce fléau, si l'on veut échanger ou transporter du matériel végétal.

L'élimination des viroses

La baisse du rendement due à la présence du virus de la mosaïque de l'igname a été estimée à 20 % en Côte d'Ivoire (Thouvenel et Dumont, 1990). Chez de nombreuses espèces, la culture de méristèmes ou d'apex permet de se débarasser de cette contrainte majeure pour la culture des ignames (Malaurie et Trouslot, 1995). Chez *D. Trifida,* la thermothérapie sur des microboutures a été utilisée pour éliminer le virus (Balagne, 1985). Après culture de méristèmes, et contrôle des plantes régénérées par immunoenzymologie, inoculation mécanique sur plantes-hôtes et observation en microscopie électronique, le matériel cultivé *in vitro* peut circuler entre laboratoires ou entre différents pays (Ng et Hahn, 1985 ; Malaurie et Trouslot, 1995).

En dehors de l'accroissement du taux de multiplication, par microbouturage, de la gestion des ressources génétiques d'ignames, de l'éradication des viroses et de l'utilisation des marqueurs moléculaires, d'autres axes d'amélioration des ignames font appel aux biotechnologies.

LES AUTRES AXES D'AMÉLIORATION DES IGNAMES PAR VOIES BIOTECHNOLOGIQUES

La culture de protoplastes, utilisée pour l'amélioration génétique des plantes cultivées depuis une vingtaine d'années, a été exploitée chez les ignames. Les travaux de Tardieu (1987) et Okito et al. (1993) chez plusieurs espèces d'ignames ont conduit à un rendement moyen de 2.10^6 à 15.10^6 protoplastes par gramme de feuilles et à un taux de 85 % de protoplastes viables mais sans aucune division. Des microcals de forme globulaire et à structure homogène ont été obtenus à partir de protoplastes chez deux cultivars de *D. alata* : *oriental Lisbon* et *yellow Lisbon*, et certains d'entre eux ont pu évoluer jusqu'à la régénération de plantes avec le *cv oriental Lisbon* (Funes et Boccon-Gibod, 1988 ; Kanoasamy, 1996 ; Mantell et Boccon-Gibod, 1997). Chez quatre génotypes de *D. cayenensis-rotundata,* des colonies de 20 à 50 cellules issues de protoplastes ont été observées et seules quelques divisions ont été obtenues chez les protoplastes de *D. bulbifera* (Mantell et Boccon-Gibod, 1997).

La culture d'embryons zygotiques matures ou immatures (Tableau I), est également exploitée chez l'igname dans le but de développer un programme d'amélioration de la plante chez *D. opposita* (Yakuwa *et al.*, 1981), *D. composita, D. cayenensis* (Viana et Mantell, 1989), *D. alata* et *D. cayenensis-D. rotundata* (Arnolin *et al.*, 1991). Chez *D opposita,* l'embryogenèse somatique a permis de régénérer des plantules à partir de suspensions cellulaires (Nagasawa et Finer, 1989). Chez *D. alata,* grâce aux cultures d'explants et de protoplastes, on a observé les premiers stades d'embryogenèse somatique (Twyford et Mantell, 1990). Parfois, une proportion d'embryons somatiques atteignant 80 % a pu régénérer des plantules de *D. alata.*

Les quelques essais de transformation génétique de l'igname ont utilisé des souches sauvages d'*Agrobacterium* avec *D. bulbifera* (Schäfer *et al.*, 1987), ou l'électroporation avec incorporation d'ADN étranger et vérification par « southern blot » (Tor et al., 1996).

Tableau 1 : Les méthodes biotechnologiques utilisées chez les principales ignames alimentaires en Afrique (Hanson, 1986 modifié).

Espèces	Zone d'origine	Principales aires de culture ou consommation sauvages	Outils biotechnologiques utilisés pour leur étude
D. abyssinica (S)	Afrique	Afrique	M
D. alata (C)	Asie du Sud-Est Asie du Sud-Est	Afrique de l'Ouest	CA ; CP ; CEZ ; ES ; M; TG
D. bulbifera (S et C)	Asie du Sud-Est Asie du Sud-Est	Asie et Afrique	ES ; M ; TG ; CP
D. cayenensis- *D. rotundata* (C)	Afrique de l'Ouest	Afrique de l'Ouest	CA ; CP ; CEZ ; ES ; M
D. dumetorum (S et C)	Afrique	Afrique	M
D. esculenta (C)	Asie du Sud-Est Asie du Sud-Est	Asie et Pacifique	CA ; M
D. praehensilis (S)	Afrique	Afrique	M
D. mangenotiana (S)	Afrique	Afrique	M

Espèces . C Cultivé , S Sauvage ;

Méthodes biotechnologiques . CA . Culture d'Apex , CEZ . Culture d'embryons zygotiques ,
ES Embryogenèse somatique ; M Microbouturage , TG Transformation génétique ,
CP . Culture de protoplastes

Si les biotechnologies sont utilisées pour l'étude et l'amélioration des ignames et des plantes d'une façon générale, cela ne se fait pas sans risques.

LE TRANSFERT DE BIOTECHNOLOGIES, LA BIOSÉCURITÉ ET LA CONVENTION SUR LA DIVERSITÉ BIOLOGIQUE

L'igname est "une plante séculaire et une culture d'avenir" pour les Africains, et les biotechnologies ont déjà fait leur entrée dans plusieurs instituts de recherche et universités d'Afrique. Il faut toutefois reconnaître que certains travaux utilisant les voies biotechnologiques ne se font que dans les pays du Nord. En Afrique de l'Ouest, seul l'IITA (l'Institut International de recherche en Agriculture Tropicale) va au-delà du microbouturage, en faisant de la culture de méristème pour l'éradication des viroses, en utilisant des techniques de biologie moléculaire (RFLP, RAPD-PCR,...) ou de cytométrie en flux pour la caractérisation des ressources génétiques d'ignames.

Or, la Convention sur la diversité biologique, ouverte à la signature avec le sommet de Rio, et actuellement ratifiée par 165 pays dont la plupart des pays africains, stipule en son article 16, alinéa 1 que « *chaque partie contractante, reconnaissant que la technologie inclut la biotechnologie, et que l'accès à la technologie et le transfert de celle-ci entre parties contractantes sont des éléments essentiels à la réalisation des objectifs de la Convention, s'engage... à assurer et/ou à faciliter à d'autres parties contractantes l'accès aux technologies nécessaires à la conservation et à l'utilisation durable de la diversité biologique...* » et en son article 19, alinéa 2 que « *chaque partie contractante prend toutes les mesures possibles pour encourager et favoriser l'accès prioritaire, sur une base juste et équitable, des parties contractantes, en particulier des pays en développement, aux résultats et aux avantages découlant des biotechnologies fondées sur les ressources génétiques fournies par ces Parties...* ». Ainsi, les pays du Nord et du Sud devraient conjuguer leurs efforts pour que le transfert des biotechnologies appliquées à l'igname soit effectif en Afrique.

Par ailleurs, la Convention sur la diversité biologique en son article 8 - g exige de chaque partie contractante, qu'elle « *mette en place ou maintienne des moyens pour réglementer, gérer ou maîtriser les risques associés à l'utilisation et à la libération d'organismes vivants et modifiés résultant de la biotechnologie qui risquent d'avoir sur l'environnement des impacts défavorables qui pourraient influer sur la conservation et l'utilisation durable de la diversité biologique...* ». C'est dans ce cadre qu'un protocole international est en cours d'élaboration et que la proposition du groupe Afrique rédigée par l'Éthiopie, à la suite de la réunion des experts à Aarhus a été traduite en français par le WWF (World Wide Fund for Nature)-Afrique de l'Ouest. La Côte d'Ivoire, conformément aux engagements internationaux pris, rédige sa réglementation nationale sur la biosécurité, avec l'appui de l'ADRAO et du WWF.

CONCLUSION - PERSPECTIVES

Les méthodes biotechnologiques appliquées aux ignames, devraient contribuer directement ou indirectement à la sécurité alimentaire en Afrique, en augmentant le taux de multiplication (microbouturage), en permettant une meilleure caractérisation des ressources génétiques et une meilleure compréhension de la phylogénie des ignames cultivées par les marqueurs moléculaires, ou en fournissant des plantes indemnes de virus par culture d'apex. D'autres voies peuvent également être exploitées. C'est le cas de la fourniture de semences sous forme de vitroplants ou de la réalisation de pollinisation *in vitro* ou de sauvetage d'embryons *in vitro* pour augmenter le taux de fécondation des ignames cultivées.

La plupart des résultats obtenus dans le domaine des biotechnologies étant surtout l'œuvre des chercheurs du Nord, pour aider au transfert de technologies, la communauté internationale a organisé deux séminaires internationaux sur i) "l'utilisation des biotechnologies dans l'amélioration du manioc, de l'igname et du plantain en Afrique" (IITA, Ibadan - Nigeria, 1988) et ii) "l'Afrique face au défi des biotechnologies : cas de l'igname" (IIRSDA, Abidjan - Côte d'Ivoire, 1993). Mais, aucun de ces séminaires n'a abouti à une action d'envergure sur les biotechnologies en Afrique. Il convient donc de revoir l'approche utilisée. La mise en œuvre de la Convention sur la diversité biologique constitue un cadre idéal de réalisation du transfert de biotechnologies vers les pays du Sud, avec la coopération bilatérale intégrée dans une approche sous-régionale.

Par ailleurs, des espèces sauvages et des variétés cultivées d'ignames africaines restent encore non décrites (Hladik *et al.*, 1984 ; Hamon *et al.*, 1995), tout comme la plupart des constituants de la diversité biologique (WWF, 1993). Ainsi, l'exploitation durable et rationnelle des ressources biologiques offertes par la nature, devrait constituer la priorité en amélioration des plantes.

De ce fait, le travail en cours dans le cadre d'une bourse AUPELF donne la priorité à la collecte des variétés traditionnelles d'ignames cultivées au Bénin, au Burkina Faso, en Guinée, au Mali et au Togo, avant l'utilisation des biotechnologies pour l'amélioration des ignames (pollinisation *in vitro* et sauvetage d'embryons), à partir des résultats déjà obtenus en Côte d'Ivoire. Un groupe a alors été constitué (IGAD : Igname - Gène - Agriculture - Développement) à la faveur du séminaire international sur les ressources génétiques en Afrique des savanes (Bamako, février 1997), pour permettre aux chercheurs de travailler en réseau. En effet, les ignames ne connaissent ni de frontières géographiques, ni de frontières disciplinaires et c'est en travaillant en synergie que les chercheurs africains pourront utiliser efficacement les biotechnologies et permettre aux ignames de contribuer à la sécurité alimentaire dans chacun de leurs pays.

Bibliographie

1. AMMIRATO P.V., 1976. Hormonal control of tuber formation incultured axillary buds of *D. bulbifera* and *D. alata*. Plant Physiology, 57-5 suppl. : 66 p.
2. ARNOLIN R., 1980. Culture *in vitro* et amélioration de l'igname *(Dioscorea* L.). L'igname, Séminaire international, Pointe-à-Pitre, INRA : 255 - 268.
3. ARNOLIN R., Gamiette F., Degras L., 1991. Obtention de plantules d'ignames *(D. alata* et *D. cayenensis-rotundata)* par culture d'embryons *in vitro*. In Annual meeting of Caribbean Food Crops Society, Guadeloupe, Gosier, 1-6 july 1989. INRA (Ed) 25 : 646 - 659.
4. ASEMOTA H. N., RAMSER J., LOPEZ PERALTA C., WEISING K., KAHL G., 1996. Genetic variation and cultivar identification of Jamaican yam germplasm by random amplified polymorphic DNA analysis. Euphytica (1996) 92 : 341 - 351.
5. BALAGNE M., 1985. Le microbouturage *in vitro* de l'igname cousse couche *D. trifida* en vue de son application pour la guérison des variétés atteintes de viroses. Thèse de 3ème cycle. USTL, Montpellier, 144 p.
6. BELARMINO M., DEL ROSARIO A.G., 1991. Callus induction and organogenesis in *Dioscorea* Species. Japan J. Breed., 41 : 561 - 569.
7. BUTENKO R. G., LIPSKY A.K., CHERNYAK N.D., ARYA H.C., 1984. Changes in culture medium pH by cell suspension cultures of *D. deltoidea*. Plant Science Letters, 35 : 207 - 212.

8. CONLAN R. S., Griffiths L.A., Napier J. A., Shewry P. R, Mantell S.H., AINSWORTH C., 1995. Isolation and characterisation of cDNA clones representing the genes encoding the major tuber storage protein (dioscorin) of yam *(D. cayenensis* Lam.). Plant Molecular Biology. Vol. 28, N° 3: 369-380.
9. DANSI A.A., 1995. Caractérisation des principaux cultivars d'ignames du complexe *D. cayenensis-rotundata* du Nord-Est du Bénin. Mémoire de DEA. Université Nationale de Côte d'Ivoire : 41 p.
10. FAUTRET A. 1985. Callogenèse et néoformation chez deux espèces d'ignames comestibles, *D. alata* et *D. trifida*. Thèse de Docteur Ingénieur, USTL, Montpellier, 163 p.
11. FUNES I., BOCCON-GIBOD J., 1988. Isolation, culture and microcolony formation of yam leaf mesophyll protoplasts. IAPTC colloque "Applications des cultures de cellules végétales à la production de plantes et à l'amélioration génétique". Résumé : 1 p.
12. HAMON P., 1987. Structure, origine génétique des ignames cultivées du complexe *D. cayenensis-rotundata* et domestication des ignames en Afrique de l'Ouest. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Paris Sud : 247 p.
13. HAMON P., BRIZARD J.P, ZOUNDJIHÉKPON J., DUPERRAY C. et BORGEL A., 1992. Etude des index d'ADN de huit espèces d'ignames *(Dioscorea* sp) par cytométrie en flux. Canad. J. of Bot., 70 (5) : 996 - 1000.
14. HAMON P., DUMONT R, ZOUNDJIHÉKPON J., TIO-TOURÉ B., HAMON S., 1995. Les ignames sauvages d'Afrique de l'Ouest. ORSTOM Editions et IPGRI. ISSN 1142-2581 - ISBN 2-7099-1288-0 : 84 p.
15. HANSON J. 1986. Methods of storing tropical root crop germplasm with special reference to yam. FAO/IBPGR Plant Genetic Resources Newsletter, 64 : 24 - 32.
16. HLADIK A., BAHUCHET S., DUCATILLON C., HLADIK C.M., 1984. Les plantes à tubercules de la forêt dense d'Afrique centrale. Rev. Ecol. (Terre Vie), 39 : 249 - 290.
17. JEAN M., CAPPADOCIA M., 1991. *In vitro* tuberization in *Dioscorea alata* L. *Brazo Fuerté* and *Florido* and *D. abyssinica* Hoch., Plant cell, tissue and organ culture, 26 : 147 - 152
18. JEAN M., CAPPADOCIA M., 1992. Effects of some growth regulators on *in vitro* tuberization in *D. alata* L. *Brazo Fuerte* and *D. abyssinica* Hoch. Plant Cell Reports, 11 : 34 - 38.
19. KANDASAMY K., 1996. Tissue culture studies and interaction between the yam anthracnosis pathogen and *Dioscorea alata*. PhD thesis, Wye college, University of London, 281 pp
20. MALAURIE B., PUNGU O., DUMONT R., TROUSLOT M.-F., 1993. The creation of an *in vitro* germplasm collection of yam *(Dioscorea* spp) for genetic resources preservation. Euphytica, 65 : 113 - 122.
21. MALAURIE B., TROUSLOT M.-F., 1995. Les ignames. *in* Teisson, C., 1995. Biotechnologies végétales. Intégration chez les plantes tropicales 2. CNED - AUPELF - UREF, BV 9D : 49 - 77.
22. MALAURIE B., PUNGU O., TROUSLOT M.-F., 1995. Effect of growth regulators concentrations on morphological development of meristem-tips in *D. cayenensis-D. rotundata* complex and *D. praehensilis*. A paraître dans Plant, Cell, Tissue and Organ Culture.
23. MALAURIE B., TROUSLOT M.-F., 1996. Cryopreservation of *in vitro* yam *(Dioscorea* sp) apices by the encapsulation-dehydratation technique. Eucarpia meeting on Tropical plants. 11 - 15 march 1996, Montpellier, France. Abstract book : 252.
24. MANTELL S. H., HAQUE S. Q., 1977. Three techniques for rapid clonal propagation of white Lisbon yam *(D. alata,* L.). Nouv. Agro. Antille-Guyane, 3 (3/4) : 413 - 427.
25. MANTELL S.H., HAQUE S.Q., WHITEHALL A.P., 1978. Clonal multiplication of *D. alata* L. and *D. rotundata* Poir. yams by tissue culture. J. Hort. Sci., 53 (2) : 95 - 98.
26. MANTELL S.H., BOCCON-GIBOD J., 1997. Vers la mise au point d'outils biotechnologiques pour l'amélioration génétique de l'Igname *(Dioscorea* spp). Séminaire international « L'igname, plante séculaire : culture d'avenir ». Montpellier, 3-6 juin 1997. CORAF - CIRAD.
27. NAGASAWA A., FINER J.J., 1989. Plant regeneration from embryonic suspension cultures of chinese yam *(D. opposita* Thumb). Plant Science, 60 : 263 - 271.
28. NG S.Y.C., 1988. *In vitro* tuberization in white yam *(D. rotundata* Poir.). Plant Cell, Tissue and Organ culture. 14 : 121 - 128.
29. NG S.Y.C. and HAHN, S.K., 1985. Application of tissue culture to tuber crops at IITA. In Biotechnology in international Research, IRRI, Manila : 29 - 40.
30. NIWATA E., MATSUNAKA K., FUKUSHI K., 1983. Clonal propagation of chinese yam *(Dioscorea opposita)* from shoot meristem tips. Tohoku Agricultural research, 33 . 255 - 256.

31. OKIGBO B.N., 1991. Le rôle des plantes-racines et des tubercules dans la crise alimentaire en Afrique. In Compte-rendu du 3ème Symp. Trien. de la Soc. Intern. pour les plantes-racines tropicales du 17 au 23 août 1986, Nigéria : 10 - 15.
32. OKITO P., AHOUSSOU N., MULONGOY K., 1993. Production et culture de protoplastes de *Dioscorea* sp. Poster. Séminaire régional : "L'Afrique face au défi des biotechnologies végétales : cas de l'igname". IIRSDA, Abidjan - Côte d'Ivoire : 1 p.
33. PETERS A., 1986. Quelques aspects de la morphogenèse des ignames cultivées *in vitro*. Rapport de stage. ORSTOM, Mémoire de fin d'Etudes ISTOM (74ème promotion) : 39 p.
34. RAMSER J., LOPEZ-PERALTA, WETZEL R., WEISING K., KAHL G , 1996. Genomic variation and relationships in aerial yam (*D. bulbifera* L.) detected by random amplified polymorphic DNA. Genome, 39 : 17 - 25.
35. RAMSER J., WEISING K., LOPEZ-PERALTA C., TERHALLE W., TERAUCHI R., KAHL G A paraître. Molecular marker-based taxonomy and phylogeny of guinea yam (*D. rotundata - D. cayenensis*).
36. SÈNIOU D., 1993. Contribution à la caractérisation par électrophorèse enzymatique des cultivars du complexe *D. cayenensis-rotundata*. Thèse de Docteur Ingénieur. Ecole Supérieure d'Agronomie, Lomé - Togo : 103 p.
37. SHAFER W., GORTZ A., GAHL G., 1987. T-DNA integration and expression in a monocot crop plant after induction of *Agrobacterium*. Nature, 327 : 529 - 532.
38. TERAUCHI R., TERACHI T., TSUNEWAKI K., 1989. Intraspecific variation of chloroplast DNA in *Dioscorea bulbifera* L. Theo. Appl. Genet., 81 (4) : 461 - 470.
39. TERAUCHI R., CHIKALEKE V.A., THOTTAPPILLY G., HAHN S.K. Origin and phylogeny of Guinea yams as revealed by RFLP analysis of chloroplast DNA and nuclear ribosomal DNA. Theo. and Appl. Genet. 83 (6-7) : 743 - 751.
40. TARDIEU F., 1987. Contribution à l'étude des techniques de culture *in vitro* de tissus et d'obtention de culture de protoplastes d'igname (*Dioscorea* spp). Mémoire de fin d'étude ENSH et rapport de VSNA. ORSTOM : 69 p.
41. THOUVENEL J.C., DUMONT R., 1990. Perte de rendement de l'igname infecté par le virus de la mosaïque en Côte d'Ivoire. Agron. Trop., 45 (2) : 125 - 129.
42. TOR M., TWYFORD C. T., FUNES I., BOCCON-GIBOD J., AINSWORTH C.C., MANTELL S.H., 1996. Isolation and culture of protoplasts from immature leaves and embryogenic cell suspensions of *Dioscorea* : tools for transient gene expression studies. Plant Cell Tissue and Organ Culture (Soumis).
43. TWYFORD C., MANTELL S.H., 1990. Cultural conditions required for cell division, callus induction and early stages of somatic embryogenesis in protoplast and tissue explants of *D. alata* L. cv. Oriental. Proc 8th Symp. ISTRC, Bangkok, Thailand, November 1988 · 624.
44. VIANA A.M., MANTELL S.H., 1989. Callus induction and plant regeneration from exised zygotic embryos of the seed-propagated yams *D. composita* Hemsc. and *D. cayenensis* Lam.. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 16 : 113 - 122.
45. WWF, 1993. La diversité de la vie. WWF - International : 24 p.
46. YAKUWA T., HARADA T., KASA N., ARAKI H., 1981. Studies on the botanical characteristics of genus *Dioscorea*, 2 : On the formation and germination of the seed in Chinese yam (cv Nagaimo). Journal of the Faculty of Agriculture. Hokkaido University. 60 (3) : 220 - 226.
47. ZOUNDJIHÉKPON J., 1993. Biologie de la reproduction et génétique des ignames cultivées de l'Afrique de l'Ouest, *D. cayenensis-rotundata*. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Nationale de Côte d'Ivoire. : 306 p.
48. ZOUNDJIHÉKPON J., HAMON P., AHOUSSOU N., DOUKOURÉ S., TIO-TOURÉ B., HAMON S , 1995. Biotechnologies et gestion des ressources génétiques des ignames africaines. Cinquièmes Journées scientifiques de l'AUPELF-UREF, Dakar - Sénégal : 18 p.

A16 : Les biotechnologies, source de sécurité alimentaire pour demain ?

BONNY S., chercheur INRA - Économie et Sociologie Rurales
BP01, 78850 Grignon, France
E-mail : bonny@grignon.inra.fr

La sécurité alimentaire désigne au niveau mondial l'accès de tout individu à tout moment à une nourriture suffisante et équilibrée nécessaire pour mener une vie saine et active. Elle repose sur diverses conditions :

- Une offre de nourriture suffisante tout au long de l'année.
- L'accès de tous à la nourriture, ce qui suppose de produire soi-même suffisamment et/ou d'avoir les ressources nécessaires pour acheter les aliments indispensables pour une ration équilibrée.
- Une distribution équitable de la nourriture au sein de la famille.
- Un équilibre de la ration alimentaire en termes de qualité, composition, teneur en micronutriments et une nourriture saine, non contaminée.
- Un état sanitaire favorable permettant l'assimilation des aliments.

Dans les pays européens, les préoccupations se portent aujourd'hui notamment sur la qualité de l'alimentation, car un mouvement de suspicion s'est développé, certains consommateurs craignant diverses contaminations possibles (pesticides, prions, etc.). Mais avec l'apparition de la nouvelle pauvreté, une fraction de la population y manque aussi de ressources pour se procurer une alimentation suffisante et variée. Dans les pays du Sud ce sont surtout les aspects de disponibilité et d'accès à la nourriture qui posent problème pour beaucoup, mais aussi ceux d'équilibre nutritionnel (Delpeuch, Maire 1996). Le terme de sécurité alimentaire renvoie ainsi à deux acceptions : en France il correspond le plus souvent à des aliments sains, à la sécurité en termes de santé publique (food safety). Dans les pays en développement l'accent porte surtout sur l'accès à une nourriture suffisante (food security), mais les problèmes de contamination des aliments ne doivent pas être négligés. Enfin le modèle de consommation alimentaire joue partout un rôle notable car divers déséquilibres proviennent d'un excès ou d'un déficit de certaines catégories d'aliments en raison des habitudes et des choix des consommateurs.

La sécurité alimentaire suppose un équilibre entre l'offre et la demande qui puisse durer. Compte tenu de la croissance de la population mondiale, l'accent est souvent mis aujourd'hui sur la nécessité d'accroître la production et les rendements sans dégrader l'environnement et les capacités productives, d'où l'importance accordée depuis quelques années à la notion de développement durable. Par ailleurs comme les situations agricoles des pays et des régions sont très diverses, un certain développement des échanges est considéré comme nécessaire.

Dans cette optique de sécurité alimentaire, les biotechnologies, notamment le génie génétique, font l'objet d'une controverse quant à leurs apports possibles. Ses promoteurs, notamment les firmes qui ont investi dans ce domaine, les présentent systématiquement comme « indispensables pour nourrir l'humanité au XXI^{e} siècle » en raison de leurs nombreux intérêts (limitation des pertes dans la production agricole, introduction d'intéressantes caractéristiques agronomiques ou nutritionnelles, etc.). À

l'opposé, un mouvement de méfiance s'est développé, notamment en Europe mais aussi à l'échelle internationale, mettant en avant certains risques d'ordre écologique, toxique, agro-économique, socio-économique, etc. et s'interrogeant sur la nécessité d'y recourir.

L'objectif de cet article est d'apporter quelques éléments de réflexion sur les enjeux des biotechnologies en matière de sécurité alimentaire :

- Sont-elles susceptibles d'accroître la suffisance et la qualité de la nourriture pour tous ?
- Peuvent-elles contribuer à une plus grande durabilité sous l'angle environnemental, condition pour une sécurité alimentaire de long terme ?
- Peuvent-elles être un facteur d'amélioration de la situation économique et des conditions de vie des populations démunies, notamment dans les pays en développement (PVD) ?

Il sera ici surtout fait référence au génie génétique sur lequel se focalise la controverse même si d'autres biotechnologies sont plus largement utilisées en amélioration des plantes (Demarly, Sibi 1996). On présentera de façon schématique les différents points de vue : d'une part les effets bénéfiques mis en avant par les promoteurs des biotechnologies, d'autre part les risques potentiels craints par d'autres. On cherchera ainsi à mieux appréhender l'origine des divergences dans les appréciations et divers enjeux des biotechnologies en matière de sécurité alimentaire.

LES BIOTECHNOLOGIES SONT-ELLES SUSCEPTIBLES D'ACCROÎTRE LA SUFFISANCE ET LA QUALITÉ DE L'ALIMENTATION POUR TOUS ?

Les promoteurs des biotechnologies insistent souvent sur leurs potentialités en ce domaine

• *Les biotechnologies pourraient permettre d'accroître la production agricole en quantité*

– En **diminuant les pertes dues à certains ravageurs des cultures**, notamment par l'introduction de gènes de résistances aux herbicides, aux insectes, aux nématodes, aux virus, aux champignons. Un certain nombre de résultats ont déjà été obtenus dans ces domaines et ont abouti à la mise sur le marché de diverses nouvelles variétés résistantes à des herbicides, des insectes ou des virus ; de nombreux travaux sont en cours. L'ILTAB (International Laboratory for Tropical Agricultural Biotechnology, laboratoire commun de l'ORSTOM et du Scripps Research Institute des USA) a réussi une avancée dans la mise au point d'un riz transgénique résistant à la bactériose. En matière de lutte contre les champignons ou les virus, la multiplication végétative *in vitro* a permis de régénérer des variétés virosées et d'obtenir des cultivars sains (eg. pomme de terre, dahlia, fraisier, etc.) ; diverses recherches sont menées aussi sur les transferts de gènes en ces domaines. Une meilleure conservation après récolte est également un facteur clé, faisant l'objet de travaux : la première plante transgénique commercialisée aux USA en 1994 était ainsi une tomate à durée de conservation prolongée.

– **En permettant d'améliorer la tolérance des plantes au sel, à la sécheresse ou à certains métaux**. L'irrigation entraîne souvent un accroissement de la salinité des sols ; par ailleurs les déficits pluviométriques sont un facteur fréquent de limitation des rendements dans de nombreuses régions du monde. Les biotechnologies pourraient permettre des apports sensibles, en particulier par transfert de gènes de plantes

halophytes, utilisation de marqueurs génétiques ou par une meilleure adaptation des plantes à la sécheresse (Monneveux, This 1997).

– **En favorisant la production de nouveaux types d'aliments ou de compléments nutritionnels**, par exemple la mise au point de POU (protéines d'organismes unicellulaires), la culture des spirulines, le développement de l'aquaculture, une diffusion peut-être plus large de certaines cultures intéressantes (quinoa, amarante, etc.).

Si l'amélioration du rendement des plantes lui-même paraît pour l'instant difficile car de nombreux gènes sont en jeu, on pense pouvoir intervenir sur divers facteurs qui agissent sur celui-ci : par exemple, l'accroissement de l'indice de récolte, l'efficacité de certaines phases de la photosynthèse. Mais, compte tenu de leur importance, la diminution des pertes devrait en elle-même permettre une augmentation de la production : Oerke (1992, dans une étude commanditée par l'European Crop Protection Association) estimait que pour la période 1988-90, les pertes dues aux ravageurs du riz s'élevaient à 55 % de la production possible sans celles-ci, pour le blé à 36 %, pour le maïs à 62 %. Ainsi, l'introduction de nouvelles résistances aux ravageurs grâce aux biotechnologies paraît intéressante (à condition que la régression d'un ravageur ne favorise pas le développement d'autres).

• *Les biotechnologies pourraient contribuer à une amélioration de la qualité des productions*

Le concept de qualité est particulièrement polysémique, mais différents aspects que recouvre cette notion peuvent être modifiés par les biotechnologies et la transgenèse, par exemple :

- qualité organoleptique permettant une meilleure acceptabilité de certains aliments ;
- modification de la teneur en certains acides gras chez les oléagineux en fonction de leur utilisation finale requérant la présence de certains d'entre eux ;
- augmentation de la teneur en certaines vitamines ;
- amélioration de la capacité des productions à subir certains processus de transformation après la récolte ;
- augmentation du taux de lactoferrine dans le lait, ce qui est bénéfique pour les très jeunes enfants.

Les firmes et la recherche publique ont déjà obtenu divers résultats en ce domaine et des colzas enrichis en certains acides gras sont déjà commercialisés aux USA.

Mais d'autres acteurs craignent que les biotechnologies n'améliorent guère la situation alimentaire d'une partie de la population mondiale, notamment de certains qui en auraient fortement besoin

• *Sur le plan quantitatif*

Les recherches en matière de biotechnologies et de génie génétique sont effectuées principalement par de grandes firmes privées qui visent les marchés solvables. Ainsi les essais aux champs de plantes transgéniques sur la période 1986-1995 ont été réalisés pour 92 % d'entre eux dans les pays développés et pour 8 % seulement dans les PVD (notamment en Argentine et Chine) (James, Krattiger, 1996). La part des essais effectués en Afrique n'était que de 0,7 % et en Asie en développement (Chine inclue) de 1,7 % pour la même période.

Certes, des travaux sur les biotechnologies et le génie génétique sont aussi menés dans les Centres Internationaux de Recherche Agronomique (CGIAR), par des organismes

de recherche de certains pays en développement[1], par ceux des pays développés axés vers la coopération (comme en France l'ORSTOM ou le CIRAD[2] et par ailleurs l'Organisation des Nations-Unies pour le Développement Industriel (ONUDI) a créé un centre international pour le génie génétique et la biotechnologie (l'ICGEB). Autrement dit certaines recherches en ce domaine sont tournées vers les pays en développement, mais elles souffrent assez souvent d'un manque de ressources. Anderson, Pardey et Roseboom (1994) ont ainsi établi que sur la période 1981-1985 les dépenses en recherche agricole par actif de l'agriculture étaient de 3,1$ 1980 (PPA) en Afrique subsaharienne (37 pays) contre 213,5 $ 1980 (PPA) dans les 18 pays les plus développés du monde [3]; de plus les ressources affectées à la recherche agronomique dans les pays les plus pauvres ont souvent régressé ces dernières années (Pardey, Alston 1995). Ainsi, **l'un des risques majeurs des biotechnologies est qu'elles ne soient pas suffisamment orientées vers la demande de ceux qui en auraient le plus besoin.**

La sécurité alimentaire suppose par ailleurs des revenus suffisants pour acheter la nourriture. Or, comme on le verra, certaines populations pourraient perdre des sources de revenus avec le développement des biotechnologies dans les pays du Nord, y permettant des productions qui concurrenceraient leurs exportations.

• *Sur le plan de la qualité*

Pour certains, le génie génétique peut comporter des risques toxiques, alimentaires et sanitaires. On évoque notamment :

- Les risques toxiques liés :

- à la nature du produit dont la synthèse est commandée par le nouveau gène,
- à la modification du métabolisme de la plante due au transgène,
- au métabolisme modifié d'herbicides auxquels la plante a été rendue tolérante.

- Les risques alimentaires (autres que toxiques) :

- risques liés aux nouveaux composés présents éventuellement dans la plante transgénique,
- risques allergiques dus au produit synthétisé par le gène transféré.

- Autres risques pour la santé :

- possibilité de développement de résistances à des antibiotiques à partir de gènes marqueurs [4]. Ainsi le maïs transgénique de CIBA possède un gène de résistance à l'ampicilline, antibiotique couramment utilisé. Certains craignent que, si ces gènes se diffusent, le phénomène de résistance aux antibiotiques (i.e. ils perdent leur efficacité

[1] La Chine cultivait déjà en 1994-95 près d'un million d'ha de plantes transgéniques, en particulier du tabac (cette plante est une des plus faciles à transformer) (James, Krattiger, 1996).

[2] ORSTOM : Institut de recherche scientifique pour le développement en coopération.
CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement.

[3] Les PPA (parités de pouvoir d'achat) sont un taux de conversion égalisant le pouvoir d'achat des différentes monnaies : 1 $ PPA permet d'acheter le même panier de biens et services dans différents pays.

[4] Les gènes marqueurs de résistance à un antibiotique servent à identifier si la plante a incorporé les nouveaux gènes, donc est bien transgénique. Ils peuvent être utiles quand il n'existe pas d'autre test simple pour distinguer les plantes portant le transgène. Ils sont aussi employés pour le procédé de transgenèse lui-même, mais de moins en moins.

car les bactéries deviennent résistantes) – déjà préoccupant – devienne encore plus fréquent. À cela les scientifiques qui ont étudié le dossier répondent que le gène de résistance à l'ampicilline est déjà très fréquent dans la nature et que les vaches susceptibles de consommer le maïs en ont déjà ingéré. Autrement dit il n'y aurait pas de nouveau risque avec les plantes transgéniques qui le possèdent (le problème serait plutôt qu'on utilise déjà beaucoup d'antibiotiques dans l'alimentation animale).

Dans la mesure où les risques toxiques et alimentaires font l'objet d'évaluations approfondies avant toute autorisation de commercialisation (Kahn, 1996 ; CNRS 1997 ; OCL 1997) en raison notamment de la sensibilisation des consommateurs occidentaux en ce domaine, ils devraient pouvoir être contrôlés, mais cela paraît plus difficile pour certains autres risques.

LES BIOTECHNOLOGIES PEUVENT-ELLES PERMETTRE UNE PLUS GRANDE DURABILITÉ SOUS L'ANGLE ENVIRONNEMENTAL ?

L'un des facteurs importants de sécurité alimentaire est la préservation du potentiel productif agricole. Aussi paraît-il nécessaire de s'interroger sur l'apport des biotechnologies en la matière, d'autant plus que les techniques agricoles mises en œuvre durant les trois dernières décennies sont assez souvent accusées de dégrader certaines ressources naturelles (Bonny, 1996b).

Les bénéfices possibles

Pour les promoteurs des biotechnologies on peut en attendre beaucoup. Par exemple :

- Elles reposent sur une utilisation et une valorisation des processus du vivant et devraient ainsi conduire à un moindre recours à des produits chimiques souvent polluants.
- Avec les plantes résistantes à certains insectes, champignons ou nématodes, l'utilisation de pesticides chimiques devrait diminuer, et avec les plantes tolérantes à un herbicide on pourrait en utiliser de peu toxiques à la place des désherbants controversés.
- La croissance de la production agricole (permise par une réduction de certaines pertes) pourrait éviter d'étendre les surfaces cultivées et de mettre en culture des sols fragiles ou des forêts.
- Elles peuvent contribuer à la diversité génétique. D'une part celle-ci est mieux connue grâce à la cartographie du génome : on peut ainsi évaluer la distance entre diverses races ou espèces et juger celles à conserver en priorité en fonction de leurs caractères intéressants. D'autre part la transgénèse peut être vue comme une nouvelle façon d'augmenter la biodiversité au sein des espèces modifiées.
- Les biotechnologies peuvent par ailleurs être utilisées pour la dépollution (bioremédiation), ce qui est un important facteur de sécurité alimentaire.

Les risques craints

D'un autre côté les écologistes, une partie des consommateurs, mais aussi certains scientifiques s'inquiètent de divers risques, paraissant parfois difficiles à contrôler. Les préoccupations portent notamment sur :

- Une artificialisation trop poussée de la nature avec en particulier la transgression des barrières d'espèces et surtout la possibilité d'effets inattendus de l'insertion de nouveaux gènes dans le génome d'un organisme (il existe en

effet beaucoup d'inconnues en matière de fonctionnement du génome et on connaît mal l'endroit où s'insèrent les nouveaux gènes introduits).

- Le passage incontrôlé des gènes transférés chez les plantes sauvages de la même famille qui se croisent avec la plante transgénique. On craint par exemple les repousses de plantes transgéniques résistant à un herbicide pouvant s'avérer difficiles à éliminer ou à contrôler dans certaines rotations. Des travaux sont menés en France dans le cas du colza, de la betterave, de la chicorée, mais ce phénomène pourrait concerner ultérieurement bien d'autres plantes (blé, luzerne, pois, fruits, légumes).
- L'emploi accru de certains herbicides comme le glyphosate avec la création de diverses cultures tolérantes à celui-ci (soja, coton, colza, haricots, etc.) peut favoriser le risque d'apparition de résistance à cet herbicide alors que pour l'instant il n'en existe quasiment pas. Cela paraît regrettable car cet herbicide total est considéré comme l'un des moins toxiques : il serait donc intéressant de préserver son efficacité.
- L'utilisation à grande échelle des protéines Bt avec la création de diverses plantes transgéniques résistantes aux insectes qui l'expriment risque également de favoriser la sélection d'insectes résistants, ce qui conduirait à ne plus pouvoir utiliser ces protéines alors qu'elles sont peu toxiques et peuvent être employées sous diverses formes (en lutte biologique, par exemple).
- On peut également s'interroger sur les effets des plantes transgéniques sur la faune auxiliaire comme les abeilles.
- Certaines biotechnologies comme la multiplication végétative in vitro peuvent entraîner une réduction de la biodiversité et une plus grande sensibilité aux maladies si leur gestion n'est pas suffisamment rigoureuse. Par ailleurs, on peut craindre que le génie génétique accentue le mouvement actuel de réduction du nombre de variétés proposées aux agriculteurs car les plantes transformées et sélectionnées vont être utilisées pour toutes les variétés ultérieures. Enfin, se préoccupera-t-on suffisamment d'améliorer les variétés locales (petites céréales sèches, etc.) ?
- L'introduction de plantes transgéniques est quelquefois comparée à celles de nouvelles espèces dans certains milieux : cela a parfois conduit à des fléaux par manque d'antagonistes naturels aux espèces introduites susceptibles alors de proliférer (Paoletti, Pimentel, 1996).

Last but not least, l'accroissement des connaissances en ce domaine peut être utilisé de multiples façons, y compris même parfois pour développer des guerres bactériologiques. Certes des guerres fort meurtrières ont pu être menées sans armes sophistiquées, mais la question des utilisations dangereuses possibles de certaines nouvelles techniques doit être posée pour tenter de les contrôler et prévenir, tâche fort difficile.

LES BIOTECHNOLOGIES PEUVENT-ELLES CONTRIBUER À AMÉLIORER LES CONDITIONS DE VIE ET LA SITUATION ÉCONOMIQUE DES POPULATIONS DÉMUNIES, NOTAMMENT DANS LES PAYS EN DÉVELOPPEMENT ?

Des potentialités prometteuses

Outre l'accroissement de production agricole, diverses applications des biotechnologies peuvent être des facteurs d'amélioration de la sécurité alimentaire, de façon directe ou indirecte :

- **En pouvant contribuer à un meilleur état de santé des populations.** Par exemple, avec la mise au point de vaccins et de médicaments moins coûteux contre certaines maladies. Des chercheurs du Boyce Thompson Institute for Plant Research ont ainsi obtenu des bananes transgéniques produisant un antigène du virus de l'hépatite B et travaillent sur un vaccin contre la diarrhée qui serait exprimé dans des pommes de terre transgéniques (Johnson, 1996). Un nombre croissant de médicaments et produits pharmaceutiques sont obtenus par des procédés biotechnologiques et représentent déjà une part notable du marché. Si certains d'entre eux sont coûteux, une baisse des prix est envisageable à plus long terme, les rendant plus accessibles. Des travaux sont également menés pour obtenir des vaccins contre certaines maladies animales comme la trypanosomiase et la peste bovine qui affectent la productivité du bétail (Gbewonyo, 1997).

Des expérimentations sont par ailleurs en cours sur des épandages de biopesticides à base de Bt pour lutter contre divers insectes vecteurs de maladies graves. L'efficacité des bio-insecticides, qui actuellement ne représentent que 2 à 3 % des insecticides vendus dans le monde, devrait pouvoir être sensiblement améliorée grâce à l'utilisation de bactéries transgéniques plus actives contre les insectes ravageurs que les bactéries naturellement pathogènes pour ceux-ci (comme Bacillus thuringiensis). Ces souches génétiquement modifiées exprimeraient plusieurs toxines différentes, ce qui réduit le risque d'apparition de résistance chez les insectes (Institut Pasteur 1997). L'un des intérêts des biopesticides de Bt est leur toxicité bien moindre que celle des insecticides chimiques.

- **Par la mise au point de techniques améliorées de dépollution.** La biodépollution (ou bioremédation) permet d'éliminer, de dégrader ou de détoxifier des polluants de l'eau, de l'air et du sol. Elle est utilisée depuis longtemps de façon empirique, mais l'évolution des connaissances en ce domaine rend possible une plus grande efficacité (OCDE 1996). La dépollution peut contribuer à améliorer l'état de santé des populations, et certains procédés peuvent favoriser la transformation de divers résidus en matières premières pour l'alimentation animale.

- **En permettant des voies technologiques moins énergivores et moins polluantes pour certains processus.** Un exemple inattendu est sans doute celui de biolixiviation des minerais, où on utilise des procédés d'oxydation biologique pour le raffinage (cela serait déjà pratiqué dans les mines d'or du Ghana) (Gbewonya 1997).

- **Sur le plan économique les répercussions de la mise en œuvre des biotechnologies paraissent plus mitigées.** Les exportations agricoles des pays développés et en particulier des USA augmenteront probablement. Cela devrait être un facteur de baisse des prix agricoles mondiaux, ou du moins un frein à leur hausse. Les populations urbaines, particulièrement les commerçants, les intermédiaires et les négociants, pourraient en bénéficier dans les PVD. Mais qu'en serait-il pour les producteurs locaux et notamment les petits paysans ? La concurrence des produits importés, souvent à bas prix, risque de décourager la production locale et donc d'appauvrir les paysans des PVD, ce qui n'est pas un facteur de sécurité alimentaire. Certes les pays émergents qui s'industrialisent pourraient avoir demain les moyens de recourir à des importations agricoles importantes, mais en général, il ne paraît pas souhaitable de dépendre entièrement des importations en matière alimentaire. La sécurité alimentaire requiert en effet une certaine part d'autosuffisance, à côté de diverses possibilités d'échange d'origine et de destination variées.

DES EFFETS NÉGATIFS ET DES RISQUES POTENTIELS

Il serait erroné, voire dangereux, de considérer les biotechnologies comme la technologie miracle susceptible de résoudre demain partout tous les problèmes alimentaires et médicaux. Elles peuvent en effet avoir des répercussions négatives pour les pays en développement ou les populations démunies :

- **Une concurrence accrue de la part des importations agricoles des pays développés** décourageant la production locale comme on vient de le voir.

- **Des pertes de débouchés et de sources de revenu** si les pays du Nord produisent par voie biotechnologique diverses substances qu'actuellement ils extraient de produits achetés dans les PVD. Ainsi la production de divers types d'acides gras dans du colza transgénique pourrait presque anéantir les exportations d'huile de palme ou de coprah de certains pays. La production par génie génétique de thaumatine ou d'arômes de vanille naturelle risque de ruiner leur production ou leur cueillette dans certains pays du Sud (Leisinger 1995, Galhardi 1996). L'impact des biotechnologies dépend en ce domaine de divers facteurs, en particulier des possibilités de diversification de la production dans les pays du Sud et de leur situation : sont-ils importateurs ou exportateurs nets de produits agricoles ? Leur potentiel technologique est-il bas ou élevé ? Pourront-ils exporter d'autres types de produits ?

- **Un « piratage » des ressources génétiques des pays du Sud**. La biodiversité, notamment spécifique et génétique, est nettement plus grande dans les pays du Sud. À partir de plantes médicinales traditionnelles des pharmacopées locales, des firmes extraient des principes actifs intéressants qu'ils protègent par brevet, puis commercialisent sous forme de médicaments. De même, des plantes locales intéressantes comme le quinoa ont été transformées génétiquement dans des pays développés avec protection par brevet. Cela peut empêcher d'autres travaux utilisant le même matériel génétique au départ, et priver aussi de débouchés les agriculteurs andins qui en produisaient pour l'exportation. Diverses ONG dénoncent par ailleurs le fait que rien ne revient aux pays du Sud qui ont découvert les intérêts de la plante (évitant aux firmes pharmaceutiques ou agrochimiques des screenings coûteux de milliers de molécules) et qui l'ont améliorée génétiquement avec des méthodes traditionnelles durant des millénaires dans le cas des plantes cultivées qui ont bénéficié de sélection de la part des populations locales. Certes, l'article 19 de la Convention de Rio sur la Diversité biologique de 1992 stipule qu'une rémunération est due aux PVD pour leur matériel génétique, mais son acceptation et son application effectives rencontrent des obstacles (Ilbert, 1997 ; Sauvain 1997).

- **Une dépendance des agriculteurs et de l'agriculture à l'égard des grandes firmes**. Les grandes firmes de l'agrochimie, de la transformation et de la distribution jouent un rôle croissant dans la production agricole : elles contrôlent et orientent de plus en plus l'évolution de ce secteur. Or cela risque de se faire davantage en fonction de leurs intérêts qu'en fonction de celui des petits agriculteurs, notamment dans les pays où ces derniers ont fort peu de pouvoir politique et sont mal représentés.

- **Un désintérêt à l'égard d'autres facteurs essentiels pour améliorer la sécurité alimentaire**. Comme les biotechnologies offrent un instrument remarquable de connaissance du fonctionnement intime du vivant et que beaucoup d'espoirs sont placés en elles, elles risquent d'absorber la majeure partie des investissements et des ressources (au sens le plus large de ces termes), ce qui conduirait à négliger d'autres facteurs tout à fait essentiels pour améliorer la sécurité alimentaire. Parmi ceux-ci on peut citer :

. **la nécessité de partir des besoins des populations**, d'adopter des démarches de développement « bottom up » (ascendantes) et non pas seulement « top down » (descendantes). C'est notamment sur cette démarche qu'insiste le concept de « Révolution doublement verte » (Griffon, Weber 1996). En outre la diversité des situations locales rend nécessaire d'identifier dans chaque cas les causes d'insécurité alimentaire pour chercher à mettre en œuvre des solutions adaptées ;

. **d'autres types de connaissances ou techniques essentiels**, en particulier tout ce qui concerne le fonctionnement des agrosystèmes et des sociosystèmes locaux, les techniques de production intégrées, etc. Les biotechnologies sont certes un instrument remarquable de connaissance et de transformation, mais au niveau moléculaire et cellulaire. Il est nécessaire de connaître aussi les organismes entiers, les systèmes de production agricoles, les écosystèmes, les sociétés et même l'état global de la planète du point de vue de leur fonctionnement et de leurs modalités d'évolution possible. Des approches plus globales que celle de la biologie moléculaire ne doivent pas être abandonnées au profit d'une seule approche puissante, mais réductionniste ;

. **d'autres aspects essentiels du développement**, notamment la nécessité de sécurité, d'absence de guerre ; le rôle crucial des infrastructures de recherche, de formation, de vulgarisation, de transport, etc. ; enfin l'imbrication des aspects sociaux, culturels, économiques.

Ces diverses répercussions potentielles négatives des biotechnologies qu'on vient d'évoquer risquent *in fine* d'accroître les disparités au détriment des populations les plus démunies qui pourraient ne guère tirer de bénéfice des biotechnologies, soit en n'y ayant pas accès (les biotechnologies visent principalement les marchés solvables, non les besoins des zones où elles seraient les plus utiles), soit si celles-ci contribuent de manière indirecte à leur appauvrissement (par perte de débouchés pour leurs productions par exemple).

CONCLUSION

Les promoteurs des biotechnologies les présentent souvent comme indispensables pour nourrir l'humanité au XXI^{e} siècle. Cet argument est fréquemment utilisé pour les légitimer face à des mouvements de suspicion apparus notamment en Europe en 1996 avec l'autorisation de commercialisation du maïs transgénique provenant des USA. On entend souvent dire que les populations des pays développés, bien nourries voire surnourries, ont en quelque sorte des réactions d'« enfants gâtés dont l'assiette est bien remplie », mais que pour les PVD les biotechnologies s'avéreront comme la panacée aux problèmes de sécurité alimentaire du XXI^{e} siècle.

Incontestablement les biotechnologies offrent des potentialités notables, en premier lieu en tant qu'instrument de connaissance du fonctionnement du vivant, ce qui donne des indications pour savoir comment intervenir ; de la sorte, elles ont des perspectives d'applications notables en de nombreux domaines (cf. par exemple OCDE 1996; Bonny 1996a). Dans cet article, on a cherché à examiner leurs effets possibles sur trois éléments clés de la sécurité alimentaire : (a) la suffisance et la qualité de l'alimentationÊ; (b) la durabilité sous l'angle environnemental des techniques agricoles utilisées et le maintien des capacités productives ; (c) enfin, l'amélioration des conditions de vie et de la situation économique des populations démunies et des PVD.

Pour cela, on a notamment présenté leurs apports et leurs risques potentiels en ces divers domaines. Les biotechnologies peuvent incontestablement contribuer par divers aspects à une croissance des disponibilités alimentaires globales, à une amélioration de l'environnement et des conditions de vie. Mais le risque serait que leurs promoteurs laissent sous-entendre que la solution aux problèmes de sécurité alimentaire est seulement technique et qu'il suffirait essentiellement de produire plus et d'accroître les rendements. Or, dès maintenant en l'état des techniques et des connaissances du milieu des années 1990, il est techniquement possible de nourrir les huit milliards d'hommes prévus pour 2025 (Bonny 1996b ; Bender, Smith 1997). Les causes profondes de l'insécurité alimentaire sont en effet notamment les guerres, l'inégalité de la répartition des terres et des richesses, la désorganisation de certaines structures politico-économiques, et des modèles de consommation alimentaire mal équilibrés. D'ailleurs, pour pouvoir exprimer leur potentiel, les biotechnologies doivent s'enraciner dans les divers pays et s'intégrer dans leurs systèmes de recherche-développement-formation et dans les systèmes productifs locaux (Brenner 1996).

Par contre, il y a risque si une technologie considérée ou présentée comme miraculeuse et thaumaturge amène à négliger certains problèmes essentiels en les esquivant, et si les biotechnologies accroissent l'exclusion de certaines populations. Les inquiétudes envers divers progrès techniques que l'on rencontre dans les pays développés expriment peut-être ainsi parfois indirectement, la crainte des processus d'exclusion : si certaines peuvent en bénéficier grandement, d'autres risquent de voir leur situation s'aggraver[1]. Pourtant, le véritable enjeu et intérêt des biotechnologies en agriculture ne serait-il pas non seulement qu'elles ne comportent pas de risques environnementaux particuliers, mais surtout qu'**elles soient mieux orientées vers la satisfaction des besoins des plus pauvres et des mal nourris** ? C'est là un des défis qu'elles posent et qu'il serait souhaitable que puissent prendre en compte les divers acteurs impliqués en ce domaine s'ils veulent pour demain un monde plus sûr et plus durable.

Remerciements

L'auteur remercie bien sincèrement tous les collègues qui lui ont fait part de leurs remarques sur les premières versions de ce texte.

Bibliographie

1. ANDERSON J.R., PARDEY P.G., ROSEBOOM J. 1994 - Sustaining growth in agriculture: a quantitative review of agricultural research investments. *Agricultural Economics* (10), pp. 107-123.
2. BENDER W., SMITH M. 1997 - Population, Food and Nutrition. *Population Bulletin* (51), 4, Feb 1997, 48 p.
3. BONNY S. 1996a - Les biotechnologies en agriculture: perspectives et enjeux. *Futuribles* (211), juillet-août, pp. 51-76.

[1] La nourriture est par ailleurs un domaine fortement chargé de symboles dans toutes les cultures. L'idée que l'"on est ce que l'on mange" est un des ressorts fondamentaux du rapport à l'alimentation, expliquant la méfiance envers certains aliments quand on ne sait pas ce que l'on consomme, ou si la nourriture vient à cristalliser certaines inquiétudes ou angoisses (Fischler 1997).

4. BONNY S. 1996b - *L'évolution technologique en agriculture: destructrice ou durable? Les nouvelles technologies sont-elles une menace pour l'environnement ou le moyen de nourrir l'humanité au 21ème siècle?* Communication au colloque international « quel environnement au 21ème siècle ? » septembre 1996 18 p. Publié in : Ingénieries eau-agriculture-teritoires. Numéro spécial 1997 « Prospective pour l'environnement », pp. 51-70.
5. BRENNER C. 1996 - *Introduire la biotechnologie dans l'agriculture. Incitations, obstacles, expériences.* Paris, OCDE, 1996, 107 p.
6. CNRS 1997 - Les plantes transgéniques. Enjeux et risques. *Bio La Lettre des Sciences de la Vie du CNRS.* (70), avril 1997, 44 p.
7. DELPEUCH F., MAIRE B. 1996 - Situation nutritionnelle dans le monde: changements et enjeux. *Cahiers Agriculture* (5), pp. 415-422.
8. DEMARLY Y., SIBI M. 1996 - *Amélioration des plantes et biotechnologies.* Paris, John Libbey Eurotext, 151 p.
9. FISCHLER C. 1997 - Le rôle du culturel dans les comportements alimentaires. In: Loos F « *Les visions du futur: l'alimentation* ». Actes du colloque. Paris MM Conseil, pp. 109-118
10. GALHARDI R. 1996 - Trade implications of biotechnology in developing countries: a quantitative assessment. *Technology in Society* (18), 1, pp. 17-40.
11. GBEWONYO F. 1997 - The case for commercial biotechnology in sub-Saharan Africa *Nature Biotechnology* (15), April 1997, pp. 325-327.
12. GRIFFON M., WEBER J., 1996 - La « Révolution doublement verte »: économie et institutions. *Cahiers Agricultures* (5), pp. 239-242.
13. ILBERT H. 1997 - Communication personnelle (cf. le site Internet http://www.rio.net/insitu-mali/).
14. Institut Pasteur 1997 - Les bactéries pathogènes d'insectes et leurs applications *Annales de l'Institut Pasteur Actualités* vol 7 n° 4, avril 1997, pp. 207-296.
15. JAMES C., KRATTIGER A.F. 1996 - Global review of the field testing and commercialization of transgenic plants, 1986 to 1995: the first decade of crop biotechnology. *ISAAA Briefs* n°1, ISAAA (International Service for the Acquisition os Agri-Biotech Applications), Ithaca, new York, 31 p.
16. JOHNSON E. 1996 - Edible plant vaccines. *Nature Biotechnology* (14), Nov. 1996 pp. 1532-1533.
17. KAHN A. (éd.) 1996 - *Les plantes transgéniques en agriculture. Dix ans d'expérience de la Commission du Génie Biomoléculaire.* Paris, John Libbey Eurotext, 165 p.
18. LEISINGER K.M. 1995 - *Sociopolitical effects of new biotechnologies in developing countries* IFPRI, Discussion Paper, 14p.
19. MONNEVEUX P., THIS D. 1997 - La génétique face aux problèmes de la tolérance des plantes cultivées à la sécheresse: espoirs et difficultés. *Sécheresse* 8 (1), mars 1997, pp. 29-37.
20. OCDE 1996. Numéro spécial: biotechnologie - *Science Technologie Industrie Revue* (19), 181 p.
21. OCL 1997. Dossier: génie génétique et oléagineux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* (4)2, mars-avril 1997, pp. 100-134
22. OERKE E. C. 1992 - Summary of the cereal chapters from the book: *Protecting the world's harvest : food needs, crop losses and plant protection.* European Crop Protection Association, Bruxelles, 1992, 9 p.
23. PAOLETTI M., PIMENTEL D. 1996 - Genetic Engineering in Agriculture and the Environment. *BioScience* 46 (9), oct. 1996, pp. 665-673.
24. PARDEY P.G., ALSTON J. 1995 - Rewamping agicultural R&D. *2020 Brief* (IFPRI), n° 24, juin 1995.
25. SAUVAIN M. 1997 - L'accès à la biodiversité. *Biofutur* (168), juin 1997, pp. 21-24.

A17 : La sécurité alimentaire de l'homme par le végétal et les technologies du vivant

DUTUIT P.[1], DUTUIT J.-M., DEMARLY Y.

[1] Equipe d'Ecotechnologie, Université de Paris - Sud, Tour E1-2ème, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, (France).

INTRODUCTION

La sécurité alimentaire de l'homme, base incontournable de toute conception du bonheur, passe par la connaissance du végétal. Les plantes chlorophylliennes stockent l'énergie solaire sous une forme organique et utilisable par tous les êtres vivants. Tout l'édifice vivant repose donc sur le règne végétal, et c'est la plante photosynthétique qui capte l'énergie solaire pour le compte du règne animal. Et l'on ne conçoit pas un écosystème, à la surface de la terre, d'où le végétal serait absent, mis à part certains écosystèmes extrêmes (forts intéressants) où les producteurs primaires sont des bactéries chimiosynthétiques (écosystèmes de la Grotte de Movilé ou périphériques aux cheminées sulfureuses des fonds abyssaux).

Cela explique qu'il y a 40 000 ans l'homme jusque là cueilleur et chasseur, chercha à maîtriser, par l'élevage, son alimentation d'origine animale. Il se déplaça avec les troupeaux, là où la nature végétale était prolifique. Plus tard (vers -10 000 ans), il chercha la maîtrise de son alimentation céréalière par la culture. D'une façon générale, disons que l'homme a cherché, dès ces époques, à *maîtriser la biomasse* au travers de la domestication de l'animal et du végétal. Au début de cette aventure, les tribus recherchaient l'autosuffisance alimentaire. Toutefois, il est évident que très rapidement, une surproduction spatiale par la croissance des rendements ou temporelle par le stokage, a permis un certain commerce.

LA RECHERCHE DE LA PRODUCTIVITÉ PAR LA RECHERCHE DE L'HOMOGÉNÉITÉ

Aujourd'hui, maîtriser cette biomasse c'est : « Comment produire plus et mieux ? » Cela passe par l'amélioration des espèces cultivées sur les plans de la qualité et de la quantité. Au plan de la qualité, les caractères qui ont attiré les hommes sont par exemple, les caractères organoleptiques, de résistance (aux pathogènes, à la sécheresse, à la chaleur), et les caractères de valeur nutritive. Au plan de la quantité, il s'agit de la recherche de l'intensification de la production. Là encore l'amélioration des performances va être obtenue par des actions à plusieurs niveaux. Il est certain que l'amendement des sols, l'irrigation, les techniques de culture en milieux artificiels, vont apporter beaucoup. Mais c'est aussi en intervenant sur le végétal lui-même, que des progrès considérables ont été faits dans le domaine de la productivité. Ce sont, par exemple, les caractères de productivité par plante (nombre, poids moyen et total des fruits, production fourragère). L'homme y est parvenu par des opérations de sélection. On peut donner l'exemple des céréales (maïs ou blé), chez lesquelles les épis, perdant leur caducité, se sont chargés de grains eux-mêmes plus gros.

Le problème majeur était que, dans les populations de descendances, on ne retrouvait pas les qualités choisies. D'où la phase suivante de l'agriculture, basée d'une part sur l'utilisation de la possibilité qu'on a de multiplier un individu au travers de la

reproduction sexuée et d'autre part, sur le brassage des caractères qui résulte du croisement de cellules sexuelles de caractères différents. Partant de populations composées d'individus aux qualités très variées, le sélectionneur a eu pour tâche de faire ressortir, par le jeu des croisements, un nombre important d'individus, une population en fait, possédant tous les caractères recherchés.

Le bouturage, le greffage et toutes les formes de multiplication végétative ont été des solutions, mais la domestication a franchi une nouvelle étape il y a une cinquantaine d'années, avec les diverses techniques de clonage. Le clonage, quand il porte sur un individu, c'est le repérage d'un individu aux qualités remarquables et sa multiplication conforme en quantité importante. À ce stade, le pourcentage d'homogénéïté est pratiquement de 100 %, et le pourcentage résiduel pose problème. Cette technique court-circuite la reproduction sexuée qui fait, dans la majorité des cas, ressortir des caractères inattendus. Ce savoir-faire utilise les biotechnologies.

EN QUOI LA RECHERCHE D'HOMOGÉNÉITÉ PEUT-ELLE SE RETOURNER CONTRE SON OBJECTIF DE MAÎTRISE DE LA BIOMASSE ET NUIRE À LA SÉCURITÉ ALIMENTAIRE ?

Notions d'individualité et d'espèces

La possibilité du clonage grâce aux biotechnologies remet en cause la notion d'individualité puisque les champs pourraient être couverts de copies d'un seul individu (ce qui est le cas dans un champ de pommes de terre, par exemple). C'est assez récemment qu'au lieu de rechercher à cloner des individus particuliers, on s'est intéressé au clonage de caractères très pointus. Chaque caractère est alors pris isolément. L'individu n'a objectivement plus d'importance. À ce stade, c'est l'espèce elle-même que l'on cherche à court-circuiter. Le déterminisme génétique d'un caractère intéressant, repéré chez une espèce, va être extrait de celle-ci par les techniques dites de biologie moléculaire. Par les mêmes techniques il va être multiplié et introduit dans les individus d'une autre espèce ne possédant pas ce caractère et pouvant appartenir à un autre règne. Cette autre espèce est alors dite « porteuse » et est choisie pour la valorisation du caractère qu'elle permet. Ceci conduit à une interrogation fondamentale. Le fait d'être capable de déplacer, par le génie génétique, des gènes d'une espèce vers une autre et donc de s'affranchir des barrières entre espèces, tend à créer une sorte de banque de gènes, voire même un continuum d'ADN unique dans la biosphère. À certains égards la notion d'espèce s'estompe alors. Il n'y aurait plus de barrières spécifiques. Cette vue théorique, ou cette fiction, rappelle une chose que l'histoire des sciences a maintes fois démontré : une découverte scientifique n'est ni bonne ni mauvaise en soi, elle n'a que les qualités que l'homme lui confère dans son action de transformation de la biosphère. Dans ce cas précis, si l'on n'en reste qu'à la première appréciation, il est clair que l'homme conduirait, par sa technologie, à l'émergence d'un super-génôme, éventuellement enjolivé de quelques séquences artificielles et, allons jusqu'au bout, d'une espèce unique ! À cette vue négative du processus on peut opposer un contre argument (optimiste) qui est de dire que si ces techniques de découpage et de collage, en l'absence de processus de régulation, font tendre vers l'homogénéité, elles peuvent, si elle sont utilisées de façon pertinente, permettre au contraire, d'accroître ou de maintenir une certaine hétérogénéité. En tout état de cause, il n'est certes pas souhaitable de nier le danger d'une dérive, même faible. Plus généralement encore, ces tendances technologiques montrent que l'homme sera conduit, c'est probable, à prendre de plus en plus souvent la direction du processus évolutif sur terre.

Effets sur l'environnement

Sans évoquer le problème fondamental au niveau des mécanismes adaptatifs que peut représenter la perte de biodiversité, l'homogénéité recherchée aujourd'hui chez les plantes cultivées a des conséquences très immédiates sur l'environnement et donc, en retour, sur le vivant. Avec les variétés nouvelles (animales comme végétales) les environnements permettant les gains de productivité doivent répondre à des normes toujours plus précises. Le paysage végétal subi une structuration avec perte d'entropie, et une fragilité accrue des systèmes agraires, la diversité étant au contraire le garant d'une bonne adaptabilité. L'homme, au fil des millénaires, est donc intervenu toujours plus sur l'environnement, pour préparer les sols. À la limite, il a fabriqué des environnements artificiels tels que les serres. Il est d'ailleurs curieux, que le concept de « hors-sol » s'applique aussi bien à la culture qu'à l'élevage. Surprenant aussi, est le fait qu'une des nuisances majeures de ces cultures ou élevages modernes soit la pollution par les nitrates. Cette pollution est générée en début de la chaîne de fabrication de la biomasse par les excès d'engrais, et en fin de chaîne par les déchets (comme les lisiers) résultant de l'élevage intensif en batterie. On connaît aussi les autres sources de dérégulation de l'environnement que sont les pesticides et les désherbants.

Aspects planétaires et plurifactoriels de la sécurité alimentaire

La désertification est un autre thème qui permet de situer l'impact des biotechnologies sur la sécurité alimentaire. Prenons l'exemple bien connu du bayoud qui est une maladie du palmier dattier et qui se caractérise par un dessèchement, provoqué par un champignon qui progresse dans le système vasculaire de l'arbre, et qui conduit l'individu atteint à la mort. La disparition des palmiers entraîne un cortège de déséquilibres écosystémiques, économiques et humains. C'est la structure même de l'oasis qui est bouleversée puisqu'à l'ombre des palmeraies, traditionnellement, les hommes entretiennent des cultures vivrières. Un oasis en équilibre est un foyer de vie. Il existe donc dans ces régions des programmes de lutte contre la désertification qui ne peuvent faire appel qu'à des moyens d'importance tout à fait considérable, car réhabiliter un seul oasis n'a guère de sens et n'entraînera pas d'effet écosystémique durable. Peut-être qu'économiquement, en terme de profits financiers, ce type d'action est-il rentable. Mais l'histoire, déjà longue, des biotechnologies face au Bayoud, nous permet de mesurer l'impact sur la désertification des aides déjà injectées au niveau mondial sur ce seul point. C'est donc à une vision planétaire des ressources agricoles que nous sommes conduits, et, une fois encore, à l'obligation d'agir sur le processus évolutif planétaire.

Le vaste problème des zones arides et de la désertification nous donne un exemple capital de l'importance du végétal dans la vie politique des nations, au sens le plus large du terme. On constate qu'il existe une importante plurifactorialité du processus de désertification, sur un fond de surcharge par rapport aux ressources naturelles. L'appauvrissement en ressources agricoles d'un territoire entraîne un appauvrissement économique général de ce territoire, d'où par exemple des flux migratoires qui ne sont peut-être pas souhaités par les pays cibles de ces flux. D'où aussi des demandes d'aide économique. La désertification est dans beaucoup de cas réversible mais avec des moyens considérables. Pour une part, c'est certes question de vouloir, mais c'est aussi une question de pouvoir. Qui prendra en charge la réhabilitation des territoires atteints tout en laissant à chaque nation la liberté de ses choix économiques ?

La gestion des écosystèmes devra de plus en plus répondre à des exigences multiformes : scientifiques et techniques bien sûr, mais aussi juridiques, éthiques,

stratégiques peut-être, dans la mesure où les avenirs planétaire, continentaux ou nationaux, devront de plus en plus en tenir compte. Le drame du brûlage en forêt amazonienne, semblent nous le montrer.

Le rôle de l'homme

Comment l'homme peut-il intervenir ? Chaque individu (animal ou végétal) présente un complexe d'interfaces avec son écosystème qui s'organise chez l'homme autour de trois aspects conjoints, indissociables, mais de nature et fonctions complémentaires. Nous dirons que cette interface présente trois feuillets :

- **la société**, collectivité réunissant des entités biologiques individuelles consentantes ;
- **la culture**, patrimoine intellectuel de cette société ;
- **la technologie**, mise en œuvre par la société pour organiser l'espace-temps.

Une telle fragmentation en trois feuillets de l'interface entre l'homme-individu et la biosphère avec des feuillets où les fonctions sont différentes et s'amplifient l'une l'autre, permet de résoudre le paradoxe des relations de l'individu et de l'ensemble biosphérique. Quand l'interface à trois feuillets fonctionne correctement, chaque individu peut considérer qu'il est en prise avec toute la destinée planétaire. Nous restons alors en accord avec la biologie, tout en faisant pont avec l'ensemble des sciences humaines.

L'histoire des sciences intervient au niveau culturel et nous apprend, nous l'avons vu, qu'il existe très souvent deux facettes à une avancée technologique, l'une positive, l'autre négative. La prudence s'impose. Il n'y a bien sûr pas d'unité de mesure de la prudence et donc de seuil, mais au minimum, trois propositions peuvent être faites. Elles représentent une sorte de prise de conscience :

- **L'homme-espèce** est le régulateur actif de l'environnement.
- **L'homme-individu** est le niveau où la régulation d'un environnement est pensée, objet de science.
- **La société** est la forme sous laquelle l'homme peut exercer cette régulation, en enrichissant sa connaissance (feuillet culturel), et en se servant de l'outil (feuillet technologique et donc aussi biotechnologique).

Est-il possible de ne se poser aucune question sur la façon dont sont prises les décisions au niveau national ou international pour ne prendre que l'histoire européenne du colza transgénique pendant l'année 1996 ? Ces faits sont là mais aussi bien d'autres. On peut évoquer, en ce qui concerne la responsabilité des scientifiques, la difficulté qu'ils ont de résister à la pression des pourvoyeurs de fonds impliqués dans de grands enjeux économiques mais également leur impuissance, par manque de moyens, à faire comprendre au public où commencent les risques dans une opération de recherche. À chacun d'apprécier *a posteriori* les certitudes des uns qui ont conduit aux prises de décisions engageant l'équilibre biosphérique et les craintes des autres qui sont la marque, selon les premiers, de ceux qui appartiendraient au passé. C'est là, où l'homme-individu a un rôle sur l'environnement, en particulier quand il donne son opinion. Qui peut avoir des certitudes sur les choix des individus par rapport à ceux des nations et des nations du Sud par rapport à celles du Nord ? Les sociétés des pays du Sud ont, ou devraient avoir, leur propre appréciation sur les démarches des pays du Nord. Par exemple, est-on bien sûr que les programmes biotechnologiques du Nord, y compris ceux sur la sécheresse, appliqués à un problème comme celui de la désertification, vont convenir au Sud ?

CONCLUSION

Face au développement démographique de l'espèce humaine, l'accès à la sécurité alimentaire peut devenir un objectif stratégique de première importance pour ceux qui ne bénéficient pas de cette sécurité. Peut-être ce problème est-il actuellement masqué en Occident : le demi-siècle passé a fait croître de façon considérable les rendements agricoles dans ces pays déjà doués d'une longue tradition agronomique, au climat tolérant pour la plante et aux terres amendées de longue date. L'autosuffisance alimentaire de l'Europe a été atteinte au début des années 80 puis dépassée en 1986. De là ont découlé toute une série de tensions sur les marchés mondiaux.

Si on énumère les dysfonctionnements qui découlent de cette surproduction on peut se demander si la recherche d'autosuffisance a été, dans une période récente, le moteur des progrès techniques ou scientifiques dans le domaine de la production végétale.

- Pollutions diverses, problèmes économiques, injustice flagrante etc.

Quelle peut être la place des progrès biotechnologiques dans ce contexte ? Par les biotechnologies, au travers de la limitation recherchée des effets polluants des pesticides ou des engrais, n'est-on pas en train d'amorcer une course bien plus grave que celle liée à la productivité, qui serait une sorte de pollution du vivant par le vivant, plus rapidement fatale que la pollution du vivant par le chimique (nitrate par exemple) ou le physique (rayonnements par exemple). Plus rapidement fatale parce que, en autre, elle risquerait de toucher directement les structures génétiques intervenant dans les mécanismes de régulation au stress (résistance aux agressions diverses) ? Pourquoi la course à la performance de l'outil, utilisant des plantes modèles, devrait-elle être prioritaire par rapport aux efforts d'intégration des résultats des recherches analytiques ? L'effort d'intégration, de synthèse, nécessite lui-même une véritable recherche, mais sur des systèmes plus complexes, aux implications pluridisciplinaires, impliquant entre autre, les moyens, aujourd'hui puissants, de l'informatique. Il est vrai que les résultats en sont plus aléatoires, et de ce fait, d'un certain point de vue, moins gratifiants.

Il se pourrait qu'à ce niveau, l'analyse du rapport coûts/résultats, imprime une orientation nouvelle aux politiques scientifiques et que le tout moléculaire soit remplacé par une politique plus nuancée, en particulier dans ce domaine de la sécurité alimentaire. Il est clair que le concept de la « Deuxième révolution verte » est né de l'observation des dysfonctionnements d'ordre écosystémiques et de la volonté d'harmoniser le développement technologique avec les connaissances écologiques actuelles. L'objectif de sécurité alimentaire est partie intégrante de ce nouveau concept.

Ces quelques réflexions jetées sur le thème de la sécurité alimentaire, mettent au moins en évidence le potentiel stratégique recélé par le Nord d'une façon générale, potentiel probablement sous-estimé. La possibilité de former les pays les plus démunis de la planète aux méthodes de gestion de l'environnement, au sein de réseaux de recherche partagée et de transfert de technologies, c'est pouvoir agir efficacement sur l'espace et le temps planétaire. Ceci constitue probablement, pour les décennies qui viennent, un enjeu stratégique majeur.

A18 : Recherche agronomique et chercheur-agronome : quelles réponses face à l'insécurité alimentaire ?

MONNEVEUX P.
ENSA-INRA, 2 place Viala 34060 Montpellier Cedex

La recherche agronomique a, incontestablement, eu des effets spectaculaires sur la production agricole. Ceci est en particulier net dans le domaine de l'amélioration génétique des espèces cultivées. L'un des exemples les plus marquants (et les plus fréquemment cités !) est sans doute celui de l'augmentation des rendements du blé en Europe (+1 quintal par ha et par an dans certains cas) : cette augmentation du rendement s'explique en effet fondamentalement par une amélioration simultanée des variétés et des itinéraires techniques, résultats directs d'efforts importants consentis en matière de recherche.

Les progrès de la recherche agronomique ne doivent toutefois pas être uniquement envisagés dans le cadre d'une logique « maximaliste » ne prenant en compte que les records, souvent obtenus d'ailleurs dans des situations particulières. Analysés dans le contexte plus global du développement économique et social, de la lutte contre l'insécurité alimentaire et de la malnutrition, ces progrès apparaissent immédiatement plus modestes. On est bien loin, malgré les résultats obtenus, des prédictions (par trop optimistes !) formulées dans l'immédiat après-guerre par M. Boerma (Directeur général de la FAO), qui annonçait pour l'an 2000 des rendements potentiels de 26 tonnes de blé et de 43 tonnes de maïs, susceptibles de résoudre les problèmes de sous-alimentation ... D'importantes limitations de l'impact agricole des innovations en matière de recherche agronomique résident par ailleurs dans la diffusion des nouvelles techniques et matériels végétaux auprès des agriculteurs, l'efficacité de cette diffusion étant déterminée par de nombreux facteurs socio-économiques et culturels très fréquemment sous-estimés. Force est de constater que la diffusion a été effective, et le progrès technique sensible, en conditions de sol et de climat favorables, et dans des systèmes de culture intensifs : dans le cas de l'amélioration génétique des céréales par exemple, on peut constater que les nouvelles variétés issues de la recherche n'ont pas pu dans certains cas se substituer aux populations locales cultivées depuis des siècles (le blé dur « Oued Zenati » en Algérie, et l'orge « Albacete » en Espagne par exemple)...

Sur le plan scientifique, il s'agit également de relativiser les succès enregistrés par la recherche agronomique en termes de modification profonde du vivant et des lois de son fonctionnement : pour reprendre l'exemple du blé, on sait par exemple que les gains de rendement ont été essentiellement obtenus grâce à une simple modification de l'architecture de la plante et de l'allocation des ressources, consécutive à l'introduction de gènes de nanisme, et que la génétique n'a pu, jusqu'ici, augmenter significativement la photosynthèse nette, et la production de biomasse totale (Slafer et Andrade, 1989)...

BILAN SOMBRE, ILLUSIONS TENACES...

Le bilan en matière de développement, d'alimentation, et de conservation des ressources naturelles, malgré les progrès de la recherche, n'est guère satisfaisant à l'aube de ce « troisième millénaire » ...

Sur le plan alimentaire, et malgré les résultats spectaculaires enregistrés par la « révolution verte » dans quelques pays (Thaïlande, Mexique, Inde, Philippines), l'agriculture de la plupart des pays en développement n'a toujours pas « décollé » et l'on considère que près de 800 millions de personnes sont sous-alimentées à travers le monde (Tucquoi, 1995). En réalité, comme l'ont montré de nombreux travaux (Landy, 1996), les effets positifs de la révolution verte n'ont concerné que certaines régions bénéficiant de conditions favorables ; par ailleurs, même dans des états concernés par la « révolution verte », la malnutrition a gagné du terrain : entre 1973 et 1983, le nombre de personnes consommant moins de 2250 cal par jour a augmenté de 11 à 33 % dans le Punjab et de 11 à 44 % dans l'Haryana (Dayal et Gulati, 1993). On enregistre depuis quelques années une réduction, en raison certes de causes diverses (gel des terres, crise agricole) de la production mondiale de blé (564 000 000 t en 1994, 529 000 000 t en 1996, avec - 18 % en Argentine, - 12,5 % pour la Russie, - 6 % aux USA). Le niveau des stocks est au plus bas depuis 20 ans et atteint désormais le palier de sécurité (92 000 000 t) : on constate bien entendu une augmentation concomitante des prix (+ 28,6 % entre 1994 et 1995) (Sasson, 1996).

Des effets indirects sur l'alimentation des populations urbaines et rurales des pays dits « en développement » doivent être également attendus de la détérioration constante des termes de l'échange : en Afrique, l'augmentation plus rapide des importations que des exportations conduit à une augmentation du déficit de la balance commerciale, qui pourrait atteindre 500 millions de dollars en l'an 2000.

Sur le plan du développement, on peut faire le même constat d'« ambiguïté » : tout en acceptant des stratégies de développement très largement (et parfois exclusivement) basées sur une poursuite de la croissance, on est aujourd'hui pourtant plus sensible :

- aux limites de certaines ressources alimentaires : on assiste de fait à un plafonnement des tonnages péchés à 80 000 000 t, et à un épuisement des réserves halieutiquesÊ;
- aux limitations des ressources en sols : 3 300 000 000 ha, soit 22 % des terres émergées, sont disponibles pour la culture (Buringh, 1982) ; près de la moitié cependant est gravement affectée par des problèmes d'acidité et de toxicité aluminique (Sanchez, 1994), de salinité (Miller et Wali, 1994), et d'érosion : le seul phénomène de salinisation concerne 10 000 000 ha de plus chaque année (Szabolcs, 1994)Ê;
- aux limitations des ressources en eau : il est prévu qu'en 2025, 12 pays représentant 450 000 d'habitants vont épuiser leurs réserves et que 26 pays soit 345 000 d'habitants auront moins de 500 m^3/an/habitant (seuil de pénurie) (Gadelle, 1995).

Il y a tout lieu de penser que les biotechnologies et le génie génétique réaliseront dans les quelques années à venir des progrès considérables, qui se traduiront par de grandes avancées dans le domaine de l'amélioration génétique des plantes cultivées : la maîtrise de l'haplodiploïdisation (y compris sur des espèces aujourd'hui encore récalcitrantes) et son utilisation courante en sélection, la sélection *in vitro* pour l'amélioration de la résistance à des stress biotiques ou abiotiques, l'utilisation des marqueurs moléculaires pour le suivi d'introgressions ou le repérage de gènes contrôlant des caractères d'intérêt, la transformation génétique enfin sont à l'ordre du jour. Mais qui peut prédire aujourd'hui les retombées concrètes de ces nouvelles technologies en matière de production agricole, quand celles-ci dépendront essentiellement de la capacité de nos sociétés à assurer leur diffusion, leur utilisation

au bénéfice du plus grand nombre, et à en maîtriser les effets pervers ? Qui peut assurer qu'elles ne seront pas, ne serait-ce qu'en raison de leur coût, monopolisées par un petit groupe de pays ou d'entreprises? On peut appeler de ses voeux une « *autre révolution verte* », ou une « double révolution verte » (!) (rapport Conway, Griffon et Weber, 1996) mais qui peut nous assurer qu'elle saura, mieux que la première, prendre en compte les contraintes socio-économiques, les spécificités climatiques ou culturelles, qu'elle saura partir des demandes, des attentes, et des possibilités réelles des agriculteurs, qu'elle saura s'inscrire dans les habitudes alimentaires et les cultures populaires, au lieu de chercher à les modifier ? Les taux d'augmentation de la production alimentaire nécessaire au maintien de l'état de nutrition qui prévalaient dans les années 80 sont évalués à + 1,9% par an (3 % en Afrique) : ces objectifs sont-ils réalistes et compatibles avec l'équilibre écologique de la planète s'ils sont recherchés par la seule stratégie de l'intensification ? Cette intensification est elle même possible alors que, dans de nombreux pays, la suppression des subventions aux engrais a fait chuter leur consommation et stoppé la fertilisation ? Entre 1987 et 1990 au Ghana, le doublement du prix de l'engrais a eu pour conséquence la non-vente de 70 000 t qui auraient pu produire 200 000 tonnes supplémentaires d'aliments! (Courade, 1996). Une manière de dépasser cette contradiction consisterait à poser le problème non plus seulement en termes de croissance, mais également de redistribution : or, une telle alternative est aujourd'hui curieusement absente des discours et des politiques économiques. La faillite du communisme bureaucratique, qui prétendait incarner une idéologie égalitaire et redistributive, n'est sans doute pas, certes, étrangère à ce « silence ». Mais manquons-nous tant d'imagination qu'il faille pour cela accepter comme un destin, un *fatum*, le règne d'une pensée unique prônant, pour reprendre les termes de Semal (1996), la « *dictature du profitariat* »?

Quant à la capacité qu'auraient nos sociétés (y compris celles qui se disent « industrialisées », « avancées »,...) à maîtriser les effets pervers des nouvelles technologies, on peut éprouver certains doutes : la « vache folle » (dernier avatar en date) n'est pas la production d'un apprenti sorcier enfermé dans son laboratoire, elle n'est pas seulement le résultat du manque de rigueur ou de vigilance de fonctionnaires « bruxellois » : elle est surtout le résultat de pratiques, motivées par le seul profit, et autorisées par des législations ayant fait fi de la santé de l'individu.

Dans les pays industrialisés, il est de plus en plus fréquent d'entendre dire que « nos sociétés ont dépassé le stade de l'agriculture », et que le XXI^{e} siècle va nous faire entrer « dans une ère post-industrielle, ère des services et de la communication » : on peut certes déjà s'interroger sur la nature et la qualité de la « communication » dont il est question, à un moment où les sociétés dites « avancées » souffrent cruellement d'un déficit de communication humaine. Mais au-delà, un devoir élémentaire de solidarité internationale, un sentiment d'appartenance à un groupe humain devrait nous interdire de minimiser, d'effacer ainsi le rôle d'un secteur qui continue à faire vivre et à nourrir des millions d'hommes. Cette vision est elle-même valable dans le long terme pour les pays industrialisés? Crises et conflits sont trop intimement liés à notre histoire récente pour que nous puissions exclure la possibilité de leur retour et la nécessité alors de redonner priorité aux secteurs et activités économiques qui assurent en de telles périodes la vie ou la survie de la population (voir par exemple l'importance de l'approvisionnement des villes en produits agricoles de base pendant la seconde guerre mondiale, les pénuries en certains produits alimentaires lors de troubles politiques ou de grèves des transports...). Mais ne nous y trompons pas, de telles déclarations expriment bien une réalité : une infime minorité des recherches menées dans le monde aujourd'hui concerne l'amélioration qualitative et quantitative

des aliments et, comme l'a montré Semal (1996), « *l'accès à la nourriture ne figure pas parmi les droits humains fondamentaux proclamés dans les chartes et déclarations des organismes internationaux* ». Que dire par exemple des incitations (y compris financières) de La Communauté Économique Européenne à développer prioritairement les « utilisations non-alimentaires » des produits agricoles ? Que dire encore de la disproportion entre recherches concernant la qualité nutritionnelle des aliments, et celles n'intéressant que leur aspect visuel, extérieur (forme et coloration de fruits, couleur jaune des pâtes alimentaires ...) ? Que dire de la part accordée dans les financements de recherche, au développement, et celle consacrées aux efforts d'homogénéisation des produits quand la recherche-développement ne concerne que 2 % du PNB dans les pays riches, contre 6 % pour la métrologie et la standardisation (Latour, 1995) ?

QUI DÉCIDE EN MATIÈRE DE RECHERCHE AGRONOMIQUE, OU LE CHERCHEUR DÉPOSSÉDÉ

Une part importante de la définition des objectifs et des programmes de recherche échappe aujourd'hui aux organismes nationaux de recherche publique, et *a fortiori* aux chercheurs, ceci étant particulièrement flagrant dans les pays du tiers-monde ; dotés à l'époque coloniale de structures de recherche ayant pour objectifs prépondérants de répondre aux exigences économiques de la métropole, ces pays ont dû rapidement, au lendemain des « indépendances », mettre en place des instituts et concevoir des programmes. Or il faut bien admettre que la définition des structures et des modes de fonctionnement, plutôt que de partir des réalités locales (atouts et contraintes), s'est le plus souvent par trop inspiré des modèles déjà existants (ceux des ex-colonisateurs en particulier). Bureaucratie, formalisme, verticalisme administratif, lourdeurs de fonctionnement inhibant l'esprit d'autonomie et stérilisant à terme l'esprit d'initiative, font partie du lot des récriminations silencieuses de la plupart des chercheurs du tiers-monde ; la pénurie de moyens, consécutive aux politiques d'« ajustement structurel » et aux réductions des budgets publics, est venue accentuer ces dysfonctionnements. Il s'ensuit une démoralisation, et parfois une démotivation et une démobilisation de ces chercheurs. Les centres internationaux qui, à partir des années 60, ont voulu renforcer la recherche agricole et alimentaire, et pallier les insuffisances des programmes nationaux de recherche ont peut-être à leur tour, en se substituant à eux pour de nombreuses activités et responsabilités, développé de nouvelles dépendances : pour prendre un exemple très technique, la sélection par les programmes nationaux de lignées « adaptées » au sein de pépinières internationales standard revient moins cher (et est mieux valorisée par un chercheur dans son rapport d'activités!) que la réalisation de quelques croisements bien ciblés...

La définition des objectifs et des programmes de recherche échappe également de plus en plus au chercheur lui-même ; cette tendance est largement susceptible de se renforcer avec la multiplication des contrats entre recherche publique et entreprises privées, contrats comportant pour la plupart des clauses de confidentialité et d'exclusivité, sorte de confiscation « par l'argent » des résultats de la recherche, qui échappent à la fois à leur véritable producteur (le chercheur) et à la grande masse de leurs utilisateurs potentiels.

Face à ces évolutions, on aurait pu s'attendre chez les chercheurs, tant dans les pays du tiers-monde que dans les pays « développés », à l'émergence de prises de positions sur les enjeux, à un développement du débat, et à une remise en cause des politiques. Or, la recherche (et la recherche agronomique en particulier) donne parfois l'impression

d'être devenue une « Grande Muette » : les grandes décisions prises en matière de diffusion des OGM par exemple ont-elles fait l'objet de débats parmi les chercheurs « de base », ceux-ci ont-ils même été très largement consultés ?

Ces phénomènes de domination, d'appropriation, d'aliénation, qui concernent les sphères de la recherche et du développement comme elles concernent toute sphère d'activité productive, sont particulièrement nets et descriptibles dans le domaine de l'amélioration des plantes. On assiste déjà à une véritable lutte pour le contrôle des ressources génétiques, matière première de l'amélioration des plantes, et dans certains cas de l'industrie (extraction de composés pour l'industrie pharmaceutique) : le contrôle des banques de gènes des pays d'Europe de l'est, dans le contexte de leurs difficultés économiques et des perspectives de leur privatisation, constitue par exemple un enjeu considérable. Le secteur « secondaire » de la filière, qui regroupe les activités de transformation (sélection conventionnelle et biotechnologies), fait quant à lui l'objet d'une concentration économique extrême et vers 2010, les biotechnologies utilisant le génie génétique devraient représenter un marché de 110 à 120 milliards de $ (Kahn, 1996) ; l'exclusivité pour l'exploitation commerciale de tous les produits dérivés du gène dont une partie (une « étiquette ») aura été brevetée consacrera le contrôle que les grandes entreprises de ce secteur exerceront sur la biodiversité, transformée en simple marchandise...

LA DIFFICILE « CULTURE SCIENTIFIQUE » OU LA RESPONSABILITÉ DU CHERCHEUR

Dans de nombreux cas, comme nous venons de le voir, le chercheur ne dispose pas du pouvoir, ou même de la marge d'autonomie qui lui permettrait de peser sur une décision, ou d'intervenir dans l'utilisation des résultats de sa recherche. Pourtant, parfois cette possibilité existe et s'offre à lui : encore faut-il que celui-ci se sente interpelé, qu'il se reconnaisse suffisamment comme « citoyen du monde » et qu'il possède une vision suffisamment large de la problématique concernée pour saisir cette opportunité. Or, il semble que l'on assiste globalement aujourd'hui à une réserve marquée des scientifiques vis-à-vis du fait politique, à un désintéressement croissant de tout ce qui s'agite hors les murs du laboratoire ou de l'institution, à un retrait dans les salons feutrés de la tour d'ivoire : présence timide des chercheurs (hormis bien sûr ceux intronisés porte-parole officiels par les médias) sur les questions qui concernent les utilisations du génie génétique (clonage, OGM,...), refus de s'impliquer dans les débats autour du racisme (ne serait-ce qu'en rappelant l'absence de toute base scientifique à l' « inégalité des races »!) n'en sont que quelques exemples ponctuels... « *Les scientifiques ne sont pas innocents*, écrivait récemment Spire, *et certains d'entre eux ont une part de responsabilité dans l'utilisation de leurs recherches, soit par imprévoyance, soit par un refus d'analyse des conséquences éventuelles de leurs travaux* ». Cette attitude est peut-être en partie due à une spécialisation croissante des chercheurs et à une restriction croissante du champ de leurs compétences, qui les conduit à une inaptitude intellectuelle, culturelle, à voir les problèmes, à saisir les enjeux, et à se déterminer eux-mêmes vis-à-vis de questions, qui –même si elles sont fondamentales pour la communauté humaine– sont du domaine devenu immense de leur « hors-champ ». Mais il y va semble-t-il également d'une attitude éthique et philosophique : maint chercheur justifie son « désengagement », sa « neutralité » par une volonté de mieux répondre aux critères d'efficacité et de compétitivité effrénée qui lui sont imposés (en période de crise, il s'agit selon cette logique, de ne pas avoir d'« états d'âme », pour « rester dans la course », une course qui, on le sait laissera

beaucoup de monde sur le chemin...) ; cette attitude philosophique est aujourd'hui dominante, avec la triple hégémonie (Feyerabend, 1979) :

- d'un « réductionnisme scientifique », basé sur une organisation de la science selon des règles fixes et universelles ;
- d'un prétendu « objectivisme de la science » (or, est il totalement exclu –pour reprendre un exemple très prosaïque de Chalmers, 1982– qu'un important changement dans les perspectives de sa carrière puisse parfois avoir un effet plus décisif sur des orientations de recherche qu'un argument rationnel ?) ;
- d'une prétendue « sagesse scientifique fondamentale », selon laquelle la science serait supérieure à toute autre forme de connaissance.

Cette attitude va de pair avec une réduction (inhibition ?) de l'imaginaire et de la créativité : paradoxe, alors que tout mouvement scientifique, toute avancée des recherches ne peut être que transgression des dogmes et remise en cause des paradigmes. Perte de créativité, développement des recherches descriptives au détriment des recherches explicatives, perte de la notion de risque, primauté de l'outil-en-soi (dont l'exercice donne toujours des résultats publiables) sur son application à la résolution de questions concrètes, préférence du facile nouveau à l'original difficile, attrait de la conclusion rapide (quand, comme l'écrivait déjà Flaubert, « *la rage de vouloir conclure est une des manies les plus funestes* »)... En contrepartie, et pour compenser en quelque sorte, on investit dans la recherche de « *plus-value informationnelle* » (Latour, 1996) - car il s'agit d'être au courant de ce qui se fait de plus nouveau -, on attache une importance démesurée, illusoire, quasi-infantile, au nombre et à l'ordre des auteurs d'une publication, à la place de la revue dans laquelle on a publié... Attitude de thésaurisation plus que de création : on est là bien loin du « *perdre, mais vraiment perdre, pour laisser place à la trouvaille* » d'Apollinaire...

Les sentiments, l'émotionnel eux-mêmes sont devenus, dans nos sociétés modernes, et comme effet direct de la trinité productivité-efficacité-compétitivité, choses « tabou ». Ceci se traduit en particulier dans le domaine de la recherche, par une sous-estimation parfois dramatique des facteurs subjectifs (affinités entre personnes, affinité des personnes vis-à-vis de diverses activités, dynamique de groupe,...). Le chercheur est un être rationnel, qui ne se laisse pas distraire par ses sentiments, ses impressions, sa sensibilité ; du moins cherche-t-il souvent à donner cette image de lui-même : prétendu objectivisme de la science dont il était question plus haut. Raison sans intuition, science sans conscience. « *Si l'acte de penser*, écrivait Lesgards (*in* Spire, 1995), *consiste à conjuguer l'usage de la raison, l'exercice de la sensibilité, et l'activité de l'imaginaire, alors c'est bien la capacité même de création de nos sociétés qui se trouve mise en cause* »...

Mais si, après tout, le petit monde de la recherche scientifique n'était qu'un microcosme fait à l'image de la société qui l'entoure, et fonctionnant sur le mode du « capitalisme scientifique » (Latour, 1995), avec ses différentes formes de « crédit » (le crédit scientifique, la crédibilité, les crédits...) et de pouvoir (hiérarchie, mandarinat, exploitation des cerveaux doctoraux ou post-doctoraux)?

Dans un ouvrage récent, Axel Kahn (1996) rappelait les deux principes de l'éthique kantienne censés guider la science tel un phare dans la tempête :

« *La personne humaine ne doit jamais être considérée seulement comme un moyen, et doit toujours être considérée comme une fin* » et « *une conception, une action, une analyse, ne peuvent être considérée conformes à la morale que si les principes qui l'inspirent et les conséquences qui en découlent peuvent être appliqués sans contradiction à l'univers entier* »

Il en tirait des enseignements sur la « quadruple responsabilité » du chercheur : responsabilité de la qualité de son travail, devoir de vigilance sur les conséquences des travaux, devoir de responsabilité vis-à-vis de l'utilisation des travaux, et enfin « responsabilité citoyenne » : mais celle-ci peut-elle aujourd'hui, compte tenu des enjeux, des menaces et des espoirs, rester défensive ou doit-elle au contraire impliquer un engagement plus politique et plus actif du chercheur dans ce monde qui l'entoure et conditionne son activité et sa production scientifique propres ?

Bibliographie

1. BURINGH P. 1982. Potential of world soils for agricultural production. In: Managing soil ressources. 12th International Congress of Soil Science, New Delhi, Inde, 33-41
2. CHALMERS A.F. 1987. Qu'est-ce que la science? Popper, Kuhn, Lakatos, Feyerabend. Livre de Poche, Biblio essais ed., Paris, 286 p.
3. COURADE G.1996. Entre libéralisation et ajustement structurel : la sécurité alimentaire dans un éteau. Cahiers Agriculture, 5, 221-227.
4. DALAY E., Gulati C. 1993. Regional changes in food poverty in India. Geojournal, 30, 117-125.
5. FEYERABEND P.K. 1979. Contre la méthode, Esquisse d'une théorie anarchiste de la connaissance. Seuil ed., Paris.
6. GADELLE F. 1995. Le monde manquera-t-il bientôt d'eau? Sécheresse, 6, 9-14.
7. GRIFFON M., WEBER J. 1996. La « Révolution doublement verte » : économie et institutions.Cahiers Agricultures, 5, 239-242.
8. KAHN A. 1996. Société et révolution biologique. Pour une éthique de la responsabilité. INRA ed., « Sciences en question », 94 p.
9. LANDY F. 1996. Inde. Réforme agraire et révolution verte : l'impossible synthèse indienne. Cahiers Agricultures, 5, 271-281.
10. LATOUR B. 1995. Le métier de chercheur. Regard d'un anthropologue. INRA ed. « Sciences en question », 95 p.
11. MILLER F.P., WALI M.K. 1994. Land use issues and sustainability of agriculture. 15th World Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, 1-16.
12. SANCHEZ P. 1994. A tropical soil fertility research : toward the second paradigm. 15th World Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, 65-88.
13. SASSON A. 1996. Sécurité alimentaire mondiale : les défis. Cahiers Agricultures, 5, 215-219.
14. SEMAL J. 1996. L'agro-révolution arc-en-ciel. Cahiers Agricultures, 5, 213-214.
15. SLAFER G.A., Andrade F.H. 1989. Genetic improvement in bread wheat (Triticum aestivum L.) yield. Field Crops Research, 21, 289-296.
16. SPIRE D. 1995. Difficile partage de la connaissance. Cahiers Agricultures, 4, 326-327.
17. SZABOLCS I. 1994. Prospects of soil salinity for the 21st century. 15th World Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, 123-141.
18. TUCQUOI J.P.1995. Huit cents millions d'affamés. Le Monde, 17oct. 1995, 1et 15.