

La canne à sucre

Jean Christophe Glaszmann, Nazeema Jannoo,
Laurent Grivet, Angélique D'Hont

La canne à sucre est une production majeure des zones tropicales et subtropicales. C'est autour de sa culture que l'industrie sucrière est née et s'est développée. Actuellement, la production mondiale de saccharose dépasse 100 millions de tonnes par an, 70 % environ provenant de la canne et 30 %, de la betterave. Les plus gros producteurs sont l'Inde, le Brésil, Cuba et la Chine.

La canne cultivée a une morphologie classique de graminée pérenne. Elle est multipliée par bouturage de tige à partir du développement des bourgeons axillaires. L'accumulation du saccharose dans la tige survient à la fin de la période de végétation, après la floraison quand elle a lieu. Elle est déclenchée par une action combinée du froid, même relatif, et d'une baisse de l'alimentation hydrique (FAUCONNIER, 1991). Dans les climats équatoriaux, où il n'y a pas de saison sèche marquée, la richesse en sucre des tiges est souvent faible.

Le cycle entre deux récoltes varie entre 10 et 24 mois en fonction du climat et des choix économiques. Le cycle entre deux plantations est très variable et dépend surtout de critères socio-économiques. Il est, par exemple, confondu avec le cycle de récolte à Hawaii et peut s'étendre sur plus de dix repousses dans certaines zones défavorisées de la Réunion. La pousse issue directement des boutures s'appelle la « vierge ». Le rendement est généralement maximal à la première repousse et tend ensuite à décroître au fur et à mesure des récoltes.

La taxonomie et les ressources génétiques

La biologie, la taxonomie et la répartition géographique

La canne est une monocotylédone de la famille des poacées. L'inflorescence est une panicule lâche et ramifiée, où les fleurs (épillets) sont disposées par paires, l'une étant sessile, l'autre pédonculée. Chaque épillet est bisexué et possède trois étamines et un ovule. Toutes les tiges ne fleurissent pas forcément ; l'intensité de la floraison dépend de facteurs génétiques et climatiques. La pollinisation est anémophile comme pour la plupart des graminées. La floraison est généralement considérée comme défavorable à la production et donc contre-sélectionnée. Le fruit est un caryopse. Il n'est utilisé que pour les besoins de la sélection et ne sert jamais de semence dans les champs de production.

Le genre *Saccharum* appartient à la tribu des andropogonées, au même titre que deux céréales majeures, le maïs et le sorgho. Il trouve son origine en Asie (figure 1). Les taxonomistes distinguent cinq espèces de base.

S. officinarum, la première espèce cultivée, est probablement originaire de Papouasie-Nouvelle-Guinée. Les clones de cette espèce présentent des tiges à fort diamètre, très riches en sucre.

S. barberi est originaire d'Inde et *S. sinense*, de Chine. Les clones de ces deux espèces sont généralement plus rustiques que ceux de *S. officinarum*. Ils ont des tiges plus fines, plus fibreuses et moins riches en sucre. On pense qu'ils proviennent d'hybridations spontanées entre *S. officinarum* et l'espèce sauvage *S. spontaneum*, qui se seraient produites en Inde pour *S. barberi* et en Chine pour *S. sinense*.

S. spontaneum est une espèce sauvage à distribution géographique très vaste, qui englobe presque toute l'Asie, de l'Afghanistan aux îles du Pacifique. Les différents écotypes peuvent être annuels ou pérennes. Ils présentent une très grande variabilité morphologique.

S. robustum, autre espèce sauvage, est probablement l'ancêtre de *S. officinarum*. Elle se rencontre essentiellement en Papouasie-Nouvelle-Guinée, où elle forme des peuplements denses le long des rivières.

Toutes les espèces du genre *Saccharum* sont polyploïdes. Les clones de *S. officinarum* ont 80 chromosomes. Ce nombre a été établi sur la base de centaines d'observations, et il est vraisemblable que les quelques clones qui ne présentent pas 80 chromosomes sont en fait des hybrides avec d'autres espèces (BREMER, 1924). Les clones de *S. barberi* et de *S. sinense* ont des nombres chromosomiques variant entre 82 et 124. La plupart sont probablement aneu-ploïdes. Pour *S. spontaneum*, le nombre chromosomique varie entre 40 et 128 suivant les clones, et pas moins de 21 cytotypes différents ont été observés en

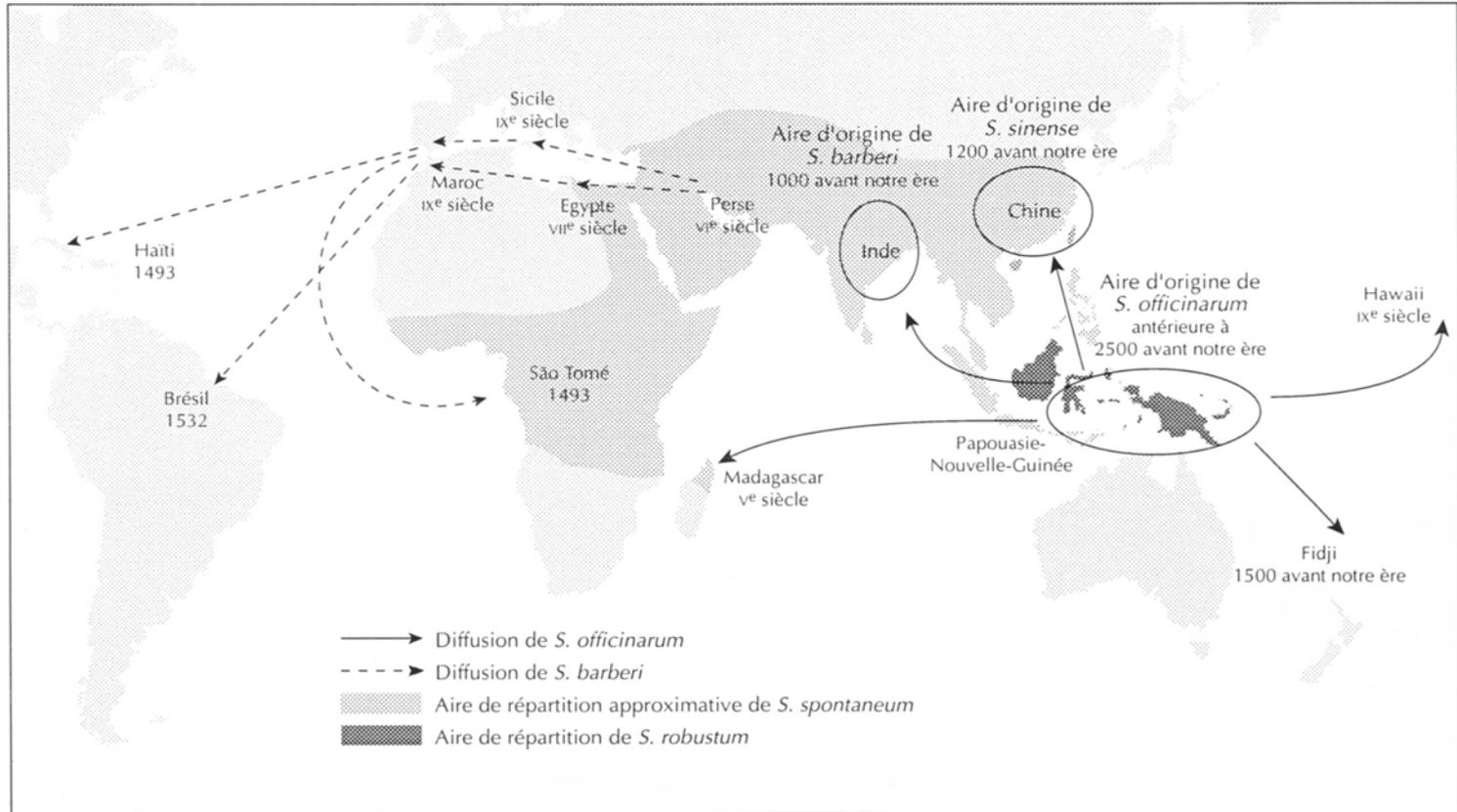


Figure 1. Aire d'origine des trois espèces de canne à sucre domestiquées, *S. officinarum*, *S. barberi* et *S. sinense*, et dispersion jusqu'au début du xv^e siècle, d'après BLUME (1985), DANIELS et ROACH (1987) et MEYER (1989).

Inde. De nombreux clones seraient aneuploïdes, mais les clones qui ont un nombre chromosomique multiple de huit sont les plus fréquents. Pour *S. robustum*, il existe deux cytotypes majoritaires : $2n = 60$ et $2n = 80$ (SREENIVASAN *et al.*, 1987). Les travaux récents d'hybridation *in situ* sur chromosomes (*fluorescent in situ hybridization* ou FISH) apportent la preuve que le nombre de base x est égal à 8 pour *S. spontaneum* et à 10 pour *S. officinarum* et *S. robustum* (D'HONT *et al.*, 1998).

Dans toutes les espèces du genre *Saccharum*, les chromosomes s'apparient principalement sous la forme de bivalents (PRICE, 1963). Des irrégularités lors de la méiose, comme la formation d'univalents ou de multivalents, sont néanmoins fréquemment observées (BURNER, 1991 ; BURNER et LEGENDRE, 1993).

L'évolution des formes cultivées

LA DOMESTICATION ET LA DIFFUSION DES CLONES

La plupart des chercheurs s'accordent sur le fait que la domestication de *S. officinarum* est survenue en Papouasie-Nouvelle-Guinée et dans les îles proches (figure 1). D'une part, il existe dans cette région une exceptionnelle diversité morphologique des clones de *S. officinarum*. D'autre part, l'espèce sauvage locale *S. robustum*, qui serait à l'origine de *S. officinarum*, y est présente (DANIELS et ROACH, 1987). La domestication de la canne serait antérieure à 2500 avant notre ère. La canne était cultivée pour être mâchée et n'a vraisemblablement pas fait l'objet d'une véritable industrie d'extraction du sucre dans son aire d'origine.

Les migrations austronésiennes auraient dispersé la culture de *S. officinarum* vers l'est, dans les îles du Pacifique sud, et vers le nord-ouest, en Inde et en Chine, aux alentours de 1500 à 1000 avant notre ère. Les espèces *S. barberi* et *S. sinense* seraient apparues à cette époque, en Inde pour la première et en Chine pour la seconde. Ces deux pays sont vraisemblablement les centres d'origine de l'industrie d'extraction du sucre.

La dispersion de la culture hors de l'aire d'origine a connu différentes étapes importantes. *S. officinarum* a probablement été disséminé avec les migrations humaines en tant que « canne de bouche », de la Mélanésie vers une grande partie des îles tropicales du Pacifique au cours du premier millénaire de notre ère. Les Européens ne découvriront cette espèce qu'au XVIII^e siècle lors des premiers voyages exploratoires dans le Pacifique. *S. barberi* a été diffusé vers l'ouest à partir de l'Inde, en tant que matière première de l'industrie sucrière. En 500, la Perse était un foyer réputé pour la production de sucre. Les Arabes ont étendu sa culture à l'Afrique du Nord et aux îles méditerranéennes. Les Portugais puis les Espagnols l'ont ensuite introduite au XV^e siècle dans les îles de l'Atlantique (Madère, Canaries, îles du Cap-Vert, São Tomé). Enfin, cette espèce a franchi l'Atlantique lors du second voyage de Christophe Colomb et a

été acclimatée pour la première fois en Amérique sur l'île d'Haïti. Au cours des deux siècles suivants, l'extension de la culture de la canne en Amérique, surtout au Brésil puis dans la Caraïbe, a été étroitement liée à la colonisation européenne et a eu pour corollaire l'économie de plantation et la traite des esclaves.

La propagation vers l'ouest de la culture de la canne à partir de l'Inde pendant le premier millénaire, son introduction en Amérique puis le développement des plantations jusqu'au milieu du XVIII^e siècle n'ont vraisemblablement été réalisés qu'à partir d'un seul clone — ou d'un très petit nombre de clones — baptisé Créole aux Antilles. Il pourrait s'agir d'un clone de *S. barberi* ou d'un hybride entre *S. barberi* et *S. officinarum*.

Au milieu du XVIII^e siècle, les explorateurs européens ont rapporté des clones de *S. officinarum* du Pacifique sud. Leur culture s'est développée rapidement en Amérique du Sud et du Centre. Ces clones, en raison de leur richesse en sucre, ont été appelés cannes « nobles ». Leur utilisation s'est rapidement développée dans les plantations. Le clone Bourbon, aussi dénommé Vellai, Otaheite et Lahaina, a été exploité presque partout en monoculture jusqu'au milieu du XIX^e siècle puis, sous la pression parasitaire, il a été remplacé par d'autres clones comme Lousier, la série des Cheribons ou encore Tanna (STEVENSON, 1965).

Si les prospections en Asie du Sud-Est et dans le Pacifique sud ont joué un rôle important dans le renouvellement clonal, il est intéressant de constater que les mutants naturels des variétés cultivées ont également obtenu un certain succès. Ainsi, Lousier serait un mutant de Bourbon et la série des Cheribons correspondrait à un ensemble de mutants de coloration issus d'un même clone.

L'UTILISATION DE LA REPRODUCTION SEXUÉE

L'inflorescence de la canne a été reconnue en tant que telle et décrite dès le XVIII^e siècle mais ce n'est qu'au milieu du XIX^e siècle, dans l'île de la Barbade, que des graines ont été observées pour la première fois (STEVENSON, 1965). Les premiers programmes de création variétale ont débuté simultanément à la Barbade et à Java vers 1890 et, au début du XX^e siècle, il existait déjà six stations de sélection dans le monde. Les sélectionneurs se sont dans un premier temps concentrés sur les croisements entre clones nobles de *S. officinarum* et ont remporté quelques succès. A Java, les clones POJ100 et EK28 sont issus de ces programmes de croisements intraspécifiques. Ils ont permis des avancées notables dans la production de sucre de l'île.

Les premiers travaux d'hybridation interspécifique ont débuté à Java dès l'installation de la station de sélection Proefstation Oost Java, au début du XX^e siècle. Ils reposaient sur la « nobilisation », terme créé par les Hollandais pour désigner le processus qui consiste à croiser un clone noble de *S. officinarum*, riche en sucre, avec un clone d'une espèce apparentée, vigoureux ou

résistant à une maladie, puis à rétrocroiser, éventuellement plusieurs fois, l'hybride sur l'espèce noble de façon à récupérer un phénotype cultivable tout en conservant le caractère intéressant apporté par le clone apparenté.

A l'époque, les plantations de Java étaient ravagées par la mosaïque, une maladie causée par un potyvirus, et par la maladie de sereh, probablement d'origine virale mais qui n'existerait plus aujourd'hui (RANDS et ABBOTT, 1964). Comme aucune source de résistance n'avait été trouvée chez *S. officinarum*, les sélectionneurs ont utilisé Chunnee, un clone résistant de *S. barberi* importé d'Inde. Les descendants n'étaient plus sensibles à la maladie de sereh, mais ils avaient de mauvais rendements en sucre et restaient sensibles à la mosaïque. Certains descendants, comme POJ213, ont été cependant cultivés à grande échelle dans d'autres régions du monde et utilisés avec succès comme géniteurs dans plusieurs stations de sélection, notamment en Inde.

La preuve de l'intérêt des croisements interspécifiques a été apportée dans les années 20. A cette époque, les sélectionneurs ont découvert à Java le clone Kassoer, qui était probablement un hybride spontané entre Black Cheribon, un clone cultivé de *S. officinarum*, et Glagah, un clone local de *S. spontaneum*. Kassoer a été nobilisé une première fois par POJ100 puis une seconde fois par EK28. Parmi les descendants, les chercheurs hollandais ont sélectionné POJ2878, un clone exceptionnel, riche en sucre et résistant à la fois à la mosaïque et à la maladie de sereh. Huit ans seulement après le croisement, POJ2878 occupait 90 % de la sole cannière de Java et s'est ensuite répandu dans le monde entier. Ce clone a connu également un succès phénoménal comme géniteur dans la plupart des stations de sélection.

En Inde, à la station de Coimbatore, les croisements interspécifiques ont commencé également dès le début du xx^e siècle. Un premier hybride commercial, Co205, a été obtenu après une seule génération de nobilisation (hybride F₁) entre Bourbon et un clone local de *S. spontaneum*. Ce succès est un exemple unique d'acquisition d'un phénotype commercial intéressant après un croisement simple sans rétrocroisement sur un clone noble. Les sélectionneurs ont développé ensuite des hybrides trispécifiques en croisant leurs hybrides F₁ *S. officinarum*-*S. spontaneum* avec les hybrides *S. officinarum*-*S. barberi* du type POJ213 produits à Java. Les meilleures variétés produites à Coimbatore l'ont été par cette voie.

Les premiers hybrides interspécifiques créés à Proefstation Oost Java et à Coimbatore (POJ2878, Co290, etc.) sont dans la généalogie de presque toutes les variétés cultivées actuelles.

Malgré ces succès, l'étroitesse de la base génétique des variétés commerciales reste une préoccupation majeure pour nombre de sélectionneurs. ARCENEUX (1967) a étudié la généalogie de 114 variétés créées dans les principales stations de sélection au cours de la période 1940-1964. Il a montré que les clones à la base de ces variétés étaient en nombre limité : 19 clones de *S. officinarum*, dont 4 ont joué un rôle particulièrement important (Black Cheribon,

Bandjarmasin Hitam, Loethers et Crystalina) ; quelques clones de *S. spontaneum*, notamment un clone à $2n = 112$ originaire de Java (Glagah) intervenu par l'intermédiaire d'un seul gamète de l'hybride interspécifique Kassoer, et un ou plusieurs clones à $2n = 64$ originaires d'Inde, baptisés Coimbatore local ; un clone de *S. barberi* (Chunnee) ; un clone de *S. robustum*, seulement présent dans la généalogie de quelques variétés produites à Hawaii. Ces chiffres contrastent avec les centaines de clones des différentes espèces qui ont été prospectés et qui sont conservés dans différentes collections (BERDING et ROACH, 1987).

Face à cette situation, les travaux de nobilisation ont repris dans plusieurs stations, en Australie, à la Barbade et en Louisiane, dans les années 60 (ROACH, 1978 ; ROACH, 1986 ; BERDING et ROACH, 1987). Plus récemment, des clones appartenant aux genres *Erianthus* et *Miscanthus* ont été utilisés comme source de matériel sauvage. Ces tentatives d'élargissement intergénérique de la base génétique n'ont pas encore donné de résultats significatifs.

LA STRUCTURE DU GÉNOME

Les variétés issues de nobilisation ont permis un bond prodigieux des rendements en sucre. *S. spontaneum* a certainement apporté des facteurs de résistance à plusieurs maladies. Le succès rencontré dans le monde entier par les premiers clones hybrides permet de penser qu'ils ont également acquis une meilleure adaptation générale aux conditions de culture, avec notamment une vigueur et un tallage plus importants et une meilleure résistance à la sécheresse et au froid (PANJE, 1972 ; ROACH, 1986). Sur le plan du génome, la contribution de *S. spontaneum* a été déterminée par des mécanismes de transmission particuliers. Les premières générations de croisements interspécifiques et de rétrocroisements ont vu la transmission de $2n$ chromosomes par le clone de *S. officinarum* utilisé comme parent femelle, alors que le parent mâle transmettait le nombre gamétique normal n . Il en résulte que les cultivars modernes ont un nombre de chromosomes compris entre 100 et 130 suivant les clones ; environ 10 % de ces chromosomes proviennent de l'espèce sauvage.

L'hybridation *in situ* (*genomic in situ hybridization* ou GISH) permet maintenant de différencier les chromosomes selon leur origine parentale (D'HONT *et al.*, 1996). A titre d'exemple, les études réalisées sur la variété R570 ($2n \approx 112$) montrent qu'à peu près 10 % des chromosomes viennent de l'espèce *spontaneum* et 10 % sont issus de recombinaisons entre des chromosomes des deux espèces parentales. Pour la variété NCo376, on dénombre environ 112 chromosomes, dont à peu près 25 viennent de *S. spontaneum* et 11 sont issus de recombinaisons interspécifiques.

La cartographie moléculaire réalisée à partir des RFLP (GRIVET *et al.*, 1996) indique que les deux espèces ancestrales, qui n'ont pas le même nombre de base, ne se différencient que par quelques réarrangements chromosomiques simples. L'appariement des chromosomes à la méiose semble de type polyso-

mique, comportement typique des autopolyploïdes. Cependant, on a constaté quelques appariements préférentiels entre certains chromosomes issus de l'espèce *S. spontaneum*. Cela peut expliquer le nombre relativement limité de recombinaisons entre chromosomes des deux espèces.

Les ressources génétiques

La canne est propagée au champ par bouturage de tiges. La production de graines est souvent possible, mais très déstructurante sur le plan génotypique chez cette plante hautement polyploïde et hétérozygote. Les échanges de matériel se font donc essentiellement sous forme de boutures.

La communauté scientifique et interprofessionnelle est très organisée. L'ISSCT (International Society of Sugar Cane Technologists) regroupe la plupart des institutions de recherche et des chercheurs travaillant sur la canne à sucre. Elle est relayée par des sociétés nationales dans chaque pays. Outre des échanges d'informations, l'ISSCT assure la coordination et parfois le financement d'actions d'intérêt général. Dans le domaine des ressources génétiques, l'ISSCT a participé à différentes activités comme la collecte de matériel et la publication de normes à respecter pour les échanges de matériel. Il existe donc une autorité et un cadre pour la conservation et la circulation de ressources génétiques, ainsi qu'une tradition d'échanges entre stations d'amélioration variétale.

Les opérations de collecte ont reposé sur une coopération internationale entre les instituts de recherche sur la canne, l'ISSCT et l'IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute), avec l'autorisation des pays prospectés.

Les échantillons prospectés ont été déposés dans deux collections mondiales : celle de l'Inde (Cannanore et Coimbatore) et celle des Etats-Unis (Miami et Canal Point). Ces collections ont reçu aujourd'hui près de 2 500 accessions chacune.

L'intérêt et le soutien de la communauté pour la collecte des ressources génétiques de la canne à sucre n'ont cependant pas été suivis des efforts nécessaires pour leur conservation, leur évaluation et leur utilisation. Les principales banques de gènes ont atteint une taille difficilement compatible avec le maintien et l'évaluation systématique de toutes les accessions. Ainsi, un grand nombre de clones de la collection des Etats-Unis ont été perdus : près de 100 % pour les premiers clones mis en collection à près de 50 % pour les clones collectés en 1976 et en 1977, principalement à cause de maladies ou de catastrophes naturelles (COMSTOCK *et al.*, 1996).

La collection de l'Inde bénéficie de bien meilleures conditions (ROACH, 1992 ; ALEXANDER et VISWANATHAN, 1996). Elle comporte 3 345 accessions, dont plus de la moitié est directement issue des collections. Elle est maintenue dans trois régions aux environnements complémentaires : à Coimbatore, par le Sugarcane Breeding Institute, pour les espèces résistantes à la mosaïque, notamment

les *Erianthus* et la plupart des clones de *S. spontaneum* ; à Cannanore, également par cet institut, pour la plupart des autres matériels (sauf *Miscanthus*) car cette région est exempte de mosaïque ; à Wellington, par l'Indian Agricultural Research Institute, pour les clones qui ne supportent pas la conservation à basse altitude, en particulier les représentants du genre *Miscanthus*. Très peu de clones conservés dans ces régions sont perdus. Par ailleurs, pour compenser le risque d'accident dans la culture des clones au champ, une collection *in vitro* a commencé à être mise en place. Il est important de signaler que la collection indienne ne jouit d'aucun soutien financier international.

Il existe de petites collections dans les pays producteurs, mais ce sont plus des collections de travail pour les sélectionneurs que des collections de conservation des ressources génétiques.

Les collections mondiales alimentent régulièrement les programmes de sélection en partie fondés sur l'élargissement de la base génétique. Les échanges et le transport du matériel végétal sous forme de boutures présentent des risques graves de transfert de pathogènes qu'il convient de contrôler. Des règles très strictes sont adoptées et des sites localisés hors des régions de culture ont été identifiés pour implanter des services de quarantaine.

Récemment, la communauté internationale a manifesté son intérêt pour la conservation et l'échange de ressources génétiques au cours de deux ateliers : un atelier de l'ISSCT, qui s'est tenu au Cirad à Montpellier en mars 1994 sur le thème des ressources génétiques de la canne à sucre, et un atelier international sur la conservation et les échanges de matériel génétique, organisé par la communauté cannière australienne, à Brisbane, en juin 1995.

La première réunion a été l'occasion de formuler des priorités en matière de gestion des ressources génétiques — notamment en faveur d'inventaires et d'échanges d'informations plus systématiques — et de standardisation des méthodes de description, en particulier pour les marqueurs moléculaires. L'intérêt d'une *core collection* a été affirmé ; celle-ci pourrait être construite à partir du regroupement et de l'analyse des données existantes, puis diffusée à travers le monde pour une caractérisation complémentaire. La seconde réunion a pris plus spécifiquement en compte les contraintes phytosanitaires qui limitent les échanges et représentent un défi permanent pour les chercheurs et les services de protection des végétaux (CROFT, 1996).

Le cadre de l'application des marqueurs moléculaires

L'analyse de la diversité génétique de la canne à sucre au moyen des marqueurs moléculaires a été entreprise dès la fin des années 60 avec les isoenzymes (HEINZ, 1969) et les flavonoïdes (WILLIAMS *et al.*, 1974 ; DANIELS et DANIELS, 1975). Ces études, ainsi que celles qui ont suivi, ont apporté des informations importantes sur la structure du genre *Saccharum* et sur ses rela-

tions avec d'autres genres (DANIELS et ROACH, 1987 ; GLASZMANN *et al.*, 1989 ; EKSONTRAMAGE *et al.*, 1992). Les marqueurs liés au polymorphisme de l'ADN ont commencé à être utilisés à la fin des années 80 pour étudier la diversité au sein du genre *Saccharum* (GLASZMANN *et al.*, 1990 ; BURNQUIST *et al.*, 1992). Des études ont été conduites par la suite sur du matériel plus particulier, allant de quelques cultivars à des représentants de genres apparentés à la canne (AL-JANABI *et al.*, 1994 ; SOBRAL *et al.*, 1994 ; HARVEY et BOTHA, 1996 ; BESSE *et al.*, 1997 ; BURNER *et al.*, 1997). Les chercheurs du Cirad ont réalisé différents travaux, en collaboration avec plusieurs partenaires, liés aux objectifs de l'amélioration génétique.

L'application des marqueurs moléculaires a eu pour objectifs de mieux comprendre l'histoire évolutive ayant abouti aux formes cultivées et de rechercher dans quelle mesure la diversité moléculaire peut avoir une valeur prédictive pour des caractères utiles aux sélectionneurs.

La diversité d'intérêt agronomique au sein du genre *Saccharum* n'a pas fait l'objet d'études de grande envergure. Cette situation tient vraisemblablement à la très grande plasticité des caractères, qui rend leur évaluation difficile. Par ailleurs, les interprétations génétiques sont limitées, puisque sont juxtaposées des sources de variation aussi différentes que le nombre de chromosomes, qui va du simple au triple chez *S. spontaneum*, et des mutations ponctuelles telles que celles qui ont accompagné l'évolution clonale des variétés cultivées. De plus, de telles études chez les espèces de base ont un impact faible car la description morphologique du matériel utilisé pour une hybridation interspécifique n'a presque aucune valeur prédictive pour les descendances qui en sont issues (SIMMONDS, 1993).

L'analyse la plus détaillée de la variation morphoagronomique chez les cultivars a été réalisée très récemment à Cannanore, au sud de l'Inde (NAIR *et al.*, 1998). Elle porte sur près de 400 cultivars issus de 10 origines géographiques et concerne essentiellement des caractères quantitatifs qui participent au rendement en sucre de la culture. Il apparaît clairement que les cultivars issus des différentes origines ne présentent pas la même adaptation au site de test. Schématiquement, les deux premiers facteurs de l'analyse multivariée expriment un niveau très variable de performance dans ce milieu, l'un étant construit à partir des corrélations entre diverses mesures de la production de canne (hauteur de tige, poids de canne, rendement en canne), l'autre par des corrélations entre différentes mesures de la richesse en saccharose. Le troisième facteur est déterminé par l'opposition classique entre le tallage et le diamètre des tiges. Il est probable que cette part de la variabilité agromorphologique des cultivars modernes soit essentiellement conditionnée par leur origine hybride interspécifique et l'équilibre entre les diverses composantes génomiques issues de *S. officinarum* et de *S. spontaneum*.

L'application des marqueurs moléculaires a eu plusieurs objectifs spécifiques. Tout d'abord, on a cherché à tester les hypothèses phylogénétiques formulées

pour expliquer les relations entre les espèces du genre *Saccharum*. On a ensuite analysé la diversité nucléaire révélée au moyen des RFLP au sein du matériel cultivé aujourd'hui. Ce matériel étant issu d'hybridations interspécifiques qui impliquent les espèces *S. officinarum* et *S. spontaneum*, les résultats ont été examinés en référence à la diversité de ces deux espèces. Dans une troisième phase, on a cherché à déterminer si la diversité avait conservé les traces de ce qui fait la caractéristique principale de l'origine des cultivars modernes de canne à sucre, à savoir le recours à l'hybridation interspécifique à partir d'un nombre très limité d'accessions suivie de quelques générations seulement d'intercroisements à partir des premiers produits interspécifiques. La conséquence attendue est l'existence de déséquilibres de liaison associant certains marqueurs ; la conséquence espérée est la possibilité d'étendre ce raisonnement à des gènes d'intérêt agronomique et de cibler les études moléculaires futures de sorte qu'elles affinent la compréhension des bases génétiques de la diversité utile pour les sélectionneurs.

L'organisation de la diversité moléculaire

Les relations entre les espèces du genre *Saccharum* et les cultivars

Avant de considérer la diversité moléculaire parmi les cultivars, il est utile de les situer par rapport aux principales espèces.

LA DIVERSITÉ CYTOPLASMIQUE

La diversité cytoplasmique a été étudiée par D'HONT *et al.* (1993) à l'aide de sondes chloroplastiques et mitochondriales hétérologues pour révéler les RFLP parmi 58 clones représentant différents groupes du complexe *Saccharum*, ainsi que quelques cultivars. La sonde chloroplastique utilisée, bien que couvrant près de 20 % du génome du chloroplaste chez le blé, a permis de différencier seulement les genres, *Saccharum*, *Erianthus* et *Miscanthus*. Les huit sondes mitochondriales utilisées ont permis de différencier 10 types de profil. Parmi les 18 clones de *S. spontaneum*, on a révélé une grande variabilité, avec l'existence de six types de profil suivant une distribution 11, 2, 2, 1, 1, 1. Aucune relation claire entre cette diversité et l'origine géographique des clones n'est apparue. Les 15 clones de *S. robustum* ont montré deux profils, qui se distinguaient par une seule bande selon une distribution 13, 2. Les clones des trois espèces cultivées, *S. officinarum*, *S. barberi* et *S. sinense*, ont montré un seul profil, identique au profil dominant de *S. robustum*. La diversité du génome mitochondrial est en accord avec les hypothèses taxonomiques entre les

espèces sauvages. Les résultats sont compatibles avec l'hypothèse selon laquelle *S. officinarum* est issu de *S. robustum*. Ils concordent aussi avec une origine hybride pour *S. barberi* et *S. sinense* par introgression entre *S. officinarum* et *S. spontaneum*, *S. officinarum* étant le parent femelle. Les quelques cultivars étudiés ont montré le même profil que les clones de *S. officinarum*.

LA DIVERSITÉ NUCLÉAIRE

La diversité nucléaire a été étudiée par Lu *et al.* (1994a ; 1994b) à l'aide de sondes nucléaires simple copie sur la base d'une collection de 51 clones représentant différentes espèces de *Saccharum* et 39 cultivars. Les profils d'hybridation ont montré pour chaque clone un grand nombre de bandes avec des intensités variables, ce qui reflète la structure polyploïde complexe des espèces. La plupart des combinaisons enzyme-sonde ont révélé entre 10 et 60 bandes parmi les clones de la collection et entre 10 et 40 bandes parmi les cultivars. Au total, 1 106 bandes polymorphes ont été notées à partir de 36 combinaisons enzyme-sonde. La plupart des bandes étaient présentes chez seulement quelques clones puisque 61 % ont été trouvées chez moins de cinq génotypes et 25 % chez seulement un génotype. Cela a permis de révéler une grande variabilité à l'intérieur de la collection, en particulier chez les espèces sauvages. Par contraste, les bandes étaient généralement plus fréquentes entre les cultivars, ce qui montre une plus grande similarité entre les génotypes cultivés. La matrice formée par les 90 individus et les 1 106 bandes comportant certaines données manquantes, différentes analyses factorielles des correspondances (AFC) ont été réalisées avec certains individus ou certains couples enzyme-sonde considérés comme inactifs pour obtenir des matrices complètes. Ces analyses ont révélé des images globales similaires, qu'elles soient fondées sur l'utilisation de 5, 10, 20 ou 30 combinaisons enzyme-sonde. La figure 2 montre la distribution globale des génotypes obtenus avec 13 combinaisons enzyme-sonde pour lesquelles les données étaient complètes pour presque tout le matériel. Les trois espèces de base, *S. spontaneum*, *S. officinarum* et *S. robustum*, sont clairement différenciées. La distribution selon l'axe 1 sépare les clones de *S. spontaneum* de ceux de *S. robustum* et de *S. officinarum*. *S. robustum* et *S. officinarum* peuvent être distingués selon l'axe 2. La plus grande diversité est observée parmi les génotypes de *S. spontaneum* puis au sein de l'échantillon de *S. robustum*. Les représentants des deux espèces *S. barberi* et *S. sinense* se distribuent entre *S. officinarum* et *S. spontaneum* à proximité des génotypes *S. officinarum*. Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle *S. officinarum* a été introduit en Inde et en Chine et pollinisé par des formes locales de *S. spontaneum* pour produire *S. barberi*, en Inde, et *S. sinense*, en Chine. Les cultivars se répartissent entre les clones de *S. officinarum* et de *S. spontaneum*, mais sont plus proches de la première espèce. Cela reflète leur origine interspécifique, mais aussi la nature du schéma de nobilisation dont ils sont issus et qui leur a été appliqué pour leur conférer les principales caractéristiques des cannes nobles.

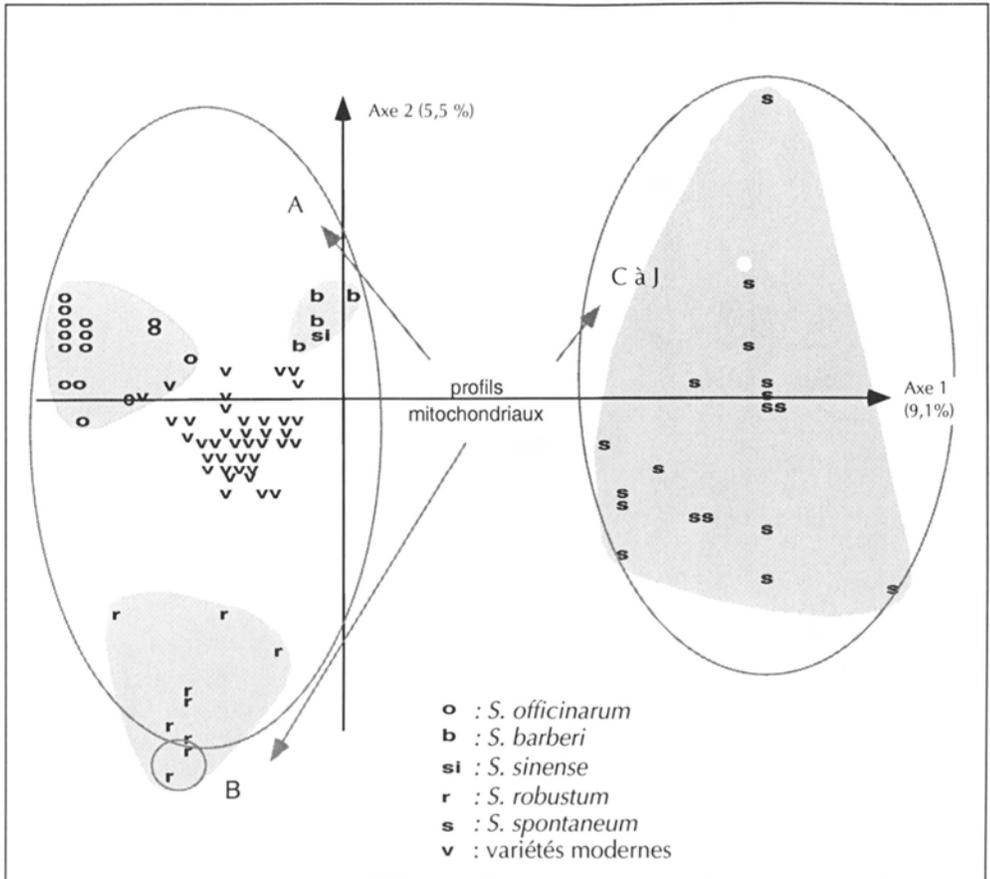


Figure 2. Distribution de 89 clones de canne à sucre cultivés ou sauvages dans le plan 1-2 d'une analyse factorielle des correspondances parmi 463 bandes RFLP polymorphes obtenues avec 13 sondes correspondant à des séquences nucléaires uniques. La distribution des divers cytotypes répertoriés grâce à huit sondes mitochondriales est indiquée.

La diversité parmi les cultivars

La diversité au sein des cultivars est conditionnée par la diversité au sein des espèces ancestrales et par la transmission de cette diversité lors des croisements interspécifiques, ainsi que par des facteurs de structuration plus fine liés à l'intervention des sélectionneurs et à l'organisation du génome.

LA DIVERSITÉ AU SEIN DES ESPÈCES ANCESTRALES

Les travaux de LU *et al.* (1994a) ont révélé une diversité considérable au sein de l'espèce *S. spontaneum*. Ainsi, la probabilité qu'une bande présente chez un clone soit aussi présente chez un autre clone qu'on lui compare (indice de Dice) est de 0,31. On peut cependant observer une structuration significative ;

L'analyse multivariée des données extraites pour *S. spontaneum* permet de différencier les génotypes d'Inde à faible nombre chromosomique des génotypes d'Asie du Sud-Est et d'Asie de l'Est, ce qui est en accord avec la classification cytogéographique de PANJE et BABU (1960), qui distingue les génotypes de la région centrale (Inde, Afghanistan) des génotypes de la région orientale (Chine, Asie du Sud-Est). La grande diversité observée parmi les génotypes du groupe oriental suggère la possibilité d'une subdivision plus fine.

La diversité au sein de l'espèce *S. officinarum* a été étudiée par LU *et al.* (1994a) et de façon plus précise par JANNOO *et al.* (1999b). Pour cette dernière étude, un échantillon de 53 clones de *S. officinarum* a été analysé par RFLP au moyen de 11 sondes nucléaires. Les clones représentaient quatre sous-ensembles particuliers : la Nouvelle-Guinée, qui est considérée comme le centre d'origine de l'espèce ; différentes îles indonésiennes (Molouques, Célèbes, Bornéo) ; plusieurs îles du Pacifique (Fidji, Nouvelle-Calédonie) ; des clones d'origine incertaine mais qui entrent largement dans la constitution des cultivars actuels. Les sondes nucléaires étaient réparties sur tous les groupes de liaison connus du génome de la canne à sucre et ont été utilisées en combinaison avec une ou deux enzymes de restriction. Un total de 305 bandes a été révélé. Sur les 53 clones analysés, deux couples de clones totalement identiques ont été relevés et 51 profils uniques ont été conservés pour les étapes suivantes de l'analyse. Les clones présentaient en moyenne entre 4,5 et 7,5 bandes par profil. Ce fort nombre de bandes caractérise le haut niveau de ploïdie de l'espèce et une forte hétérozygotie générale. L'analyse de la distribution de ce paramètre a fait apparaître un sous-ensemble de neuf clones, dont l'hétérozygotie est nettement plus élevée que celle des autres. La figure 3 montre la distribution des clones sur le plan 1-2 d'une AFC réalisée sur ces données. On distingue deux cas. Si l'on considère tous les clones (figure 3a), la structure est essentiellement déterminée par les génotypes qui possèdent le plus grand nombre de bandes : 7 génotypes regroupés dans la partie droite du plan et 2 génotypes en position extrême dans sa partie haute. Ces clones représentent des formes particulières de l'espèce, qui présentent une concentration d'allèles peu fréquents. Leur plus forte hétérozygotie (nombre plus élevé de bandes) peut être l'indicateur d'une origine hybride avec d'autres compartiments du genre ou du complexe *Saccharum*. Si l'on exclut les clones qui présentent le plus fort nombre de bandes afin de limiter l'analyse à un compartiment *S. officinarum* plus homogène, la distribution des clones devient plus continue (figure 3b). On retrouve quelques formes particulières, originaires de Nouvelle-Calédonie notamment, apparentées à un des génotypes en position extrême sur la figure 3a et retirés de cette dernière analyse. Les clones de Nouvelle-Guinée sont distribués dans toute la partie basse du plan, avec cependant une concentration forte au centre. Les clones des îles indonésiennes et ceux qui interviennent dans la généalogie des cultivars ont une distribution voisine de celle des clones de Nouvelle-Guinée. Les clones de Fidji sont intermédiaires entre les formes de Nouvelle-Calédonie et le reste des clones.

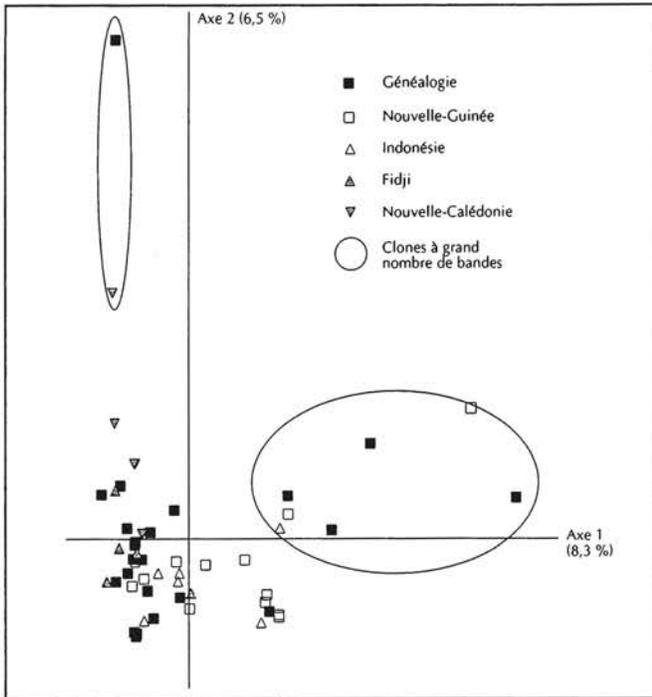


Figure 3a. Distribution de 51 génotypes de *S. officinarum* dans le plan 1-2 d'une analyse factorielle des correspondances parmi 305 bandes RFLP polymorphes obtenues avec 11 sondes correspondant à des séquences nucléaires uniques.

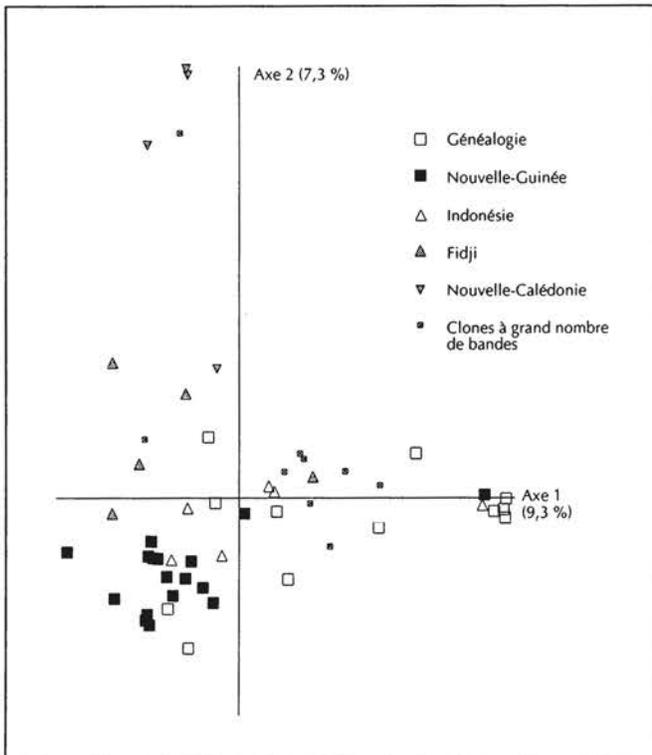


Figure 3b. Distribution de 42 génotypes de *S. officinarum* dans le plan 1-2 d'une analyse factorielle des correspondances parmi 252 bandes RFLP polymorphes obtenues avec 11 sondes correspondant à des séquences nucléaires uniques. Neuf clones ayant un grand nombre de bandes sont projetés en supplémentaires.

On constate donc chez *S. officinarum* une structuration générale probablement déterminée par des introgressions venant d'autres espèces ou d'autres genres. Parmi les formes qui semblent exemptes d'une telle influence, la variation est importante, puisqu'on observe une forte hétérozygotie, mais elle semble peu structurée. Les génotypes utilisés pour créer les cultivars modernes occupent une grande part de la distribution de l'espèce et assurent vraisemblablement une bonne représentation de la diversité de *S. officinarum* au sein du génome des cultivars.

LA DÉCOMPOSITION DE LA DIVERSITÉ CHEZ LES CULTIVARS

La diversité moléculaire au sein des cultivars a été étudiée par LU *et al.* (1994b), sur la base d'un échantillon de 39 variétés d'origine très variée, puis par JANNOO *et al.* (1999b) à partir de 109 cultivars principalement issus des programmes de sélection de la Barbade et de Maurice. Cette dernière étude a porté sur 11 sondes combinées avec une ou deux enzymes de restriction et a révélé 336 bandes polymorphes. La variabilité au sein des cultivars est caractérisée tout d'abord par un nombre de bandes plus important que chez *S. officinarum* : 7,4 contre 5,5 bandes par couple enzyme-sonde. Le traitement des données par AFC révèle plusieurs éléments importants.

La variabilité présente chez les clones de *S. officinarum* impliqués dans la généalogie des cultivars est représentée sans biais apparent (figure 4a). Une analyse plus détaillée des fréquences de bandes montre que la majorité des marqueurs se retrouve au sein des cultivars.

La partie structurante de la diversité chez les cultivars est essentiellement apportée par *S. spontaneum* (figure 4b). Les marqueurs qui contribuent le plus aux principaux axes de l'AFC sont généralement absents de l'ensemble des clones de *S. officinarum*.

L'origine des cultivars peut constituer une composante de variabilité significative, même si elle repose sur quelques marqueurs seulement. Le décalage entre les clones issus de la Barbade et ceux de Maurice est porté par le premier axe de l'AFC (figure 4b), bien qu'il soit lié à une différence de fréquence de bande pour 13 marqueurs seulement. Les résultats ne permettent pas de déterminer quels sont les facteurs responsables de cette différenciation, en particulier s'ils s'apparentent aux pratiques des sélectionneurs, comme le recours récurrent à certains géniteurs, ou s'ils dénotent un effet d'adaptation différentielle à des environnements contrastés.

LA STRUCTURATION FINE DU POLYMORPHISME

La recherche de déséquilibres de liaison a été conduite sur 59 cultivars, cultivés à l'île Maurice ou utilisés en croisement (JANNOO *et al.*, 1999a). En restreignant l'analyse au matériel issu d'un seul programme de sélection, on limite les facteurs de variation associés à l'origine géographique. On favorise ainsi la

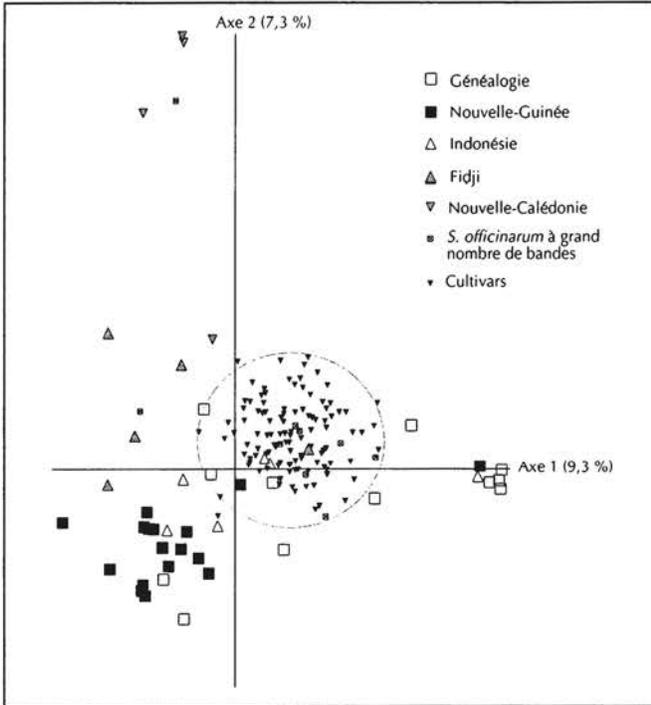


Figure 4a. Distribution de 42 génotypes de *S. officinarum* dans le plan 1-2 d'une analyse factorielle des correspondances parmi 252 bandes RFLP polymorphes obtenues avec 11 sondes correspondant à des séquences nucléaires uniques. Cent neuf cultivars sont projetés en supplémentaires.

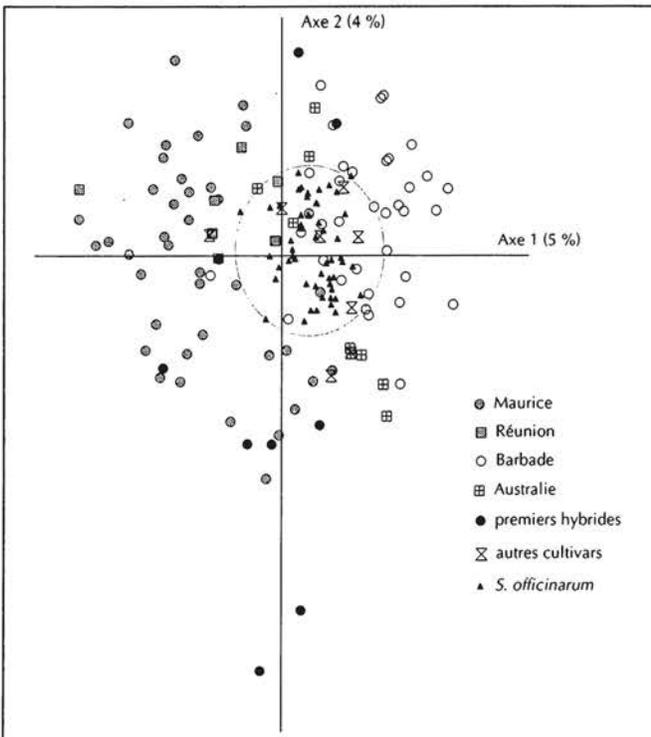


Figure 4b. Distribution de 109 cultivars de canne à sucre dans le plan 1-2 d'une analyse factorielle des correspondances parmi 336 bandes RFLP polymorphes obtenues avec 11 sondes correspondant à des séquences nucléaires uniques. Cinquante et un clones de *S. officinarum* sont projetés en supplémentaires.

révélation d'associations entre marqueurs imputables à la seule liaison physique sur les chromosomes.

Il ressort de cette analyse que les associations impliquent généralement des locus séparés par moins de 10 centimorgans (figure 5). Quarante-deux cas d'association entre au moins deux locus liés ont été répertoriés, représentant des formules alléliques multilocus présentes chez au moins un des premiers géniteurs et donc probablement transmises par lui à l'origine. Environ deux tiers des associations impliquent des marqueurs qui semblent issus de *S. spontaneum*.

Cette composante de la structuration de la diversité au sein des cultivars est interprétée comme le résultat d'un effet de fondation (associé au goulet d'étranglement) intervenu lors du recours à quelques hybrides interpécifiques seulement. Les associations ainsi créées ont pu être maintenues au cours des croisements successifs lorsque la liaison physique était suffisamment forte.

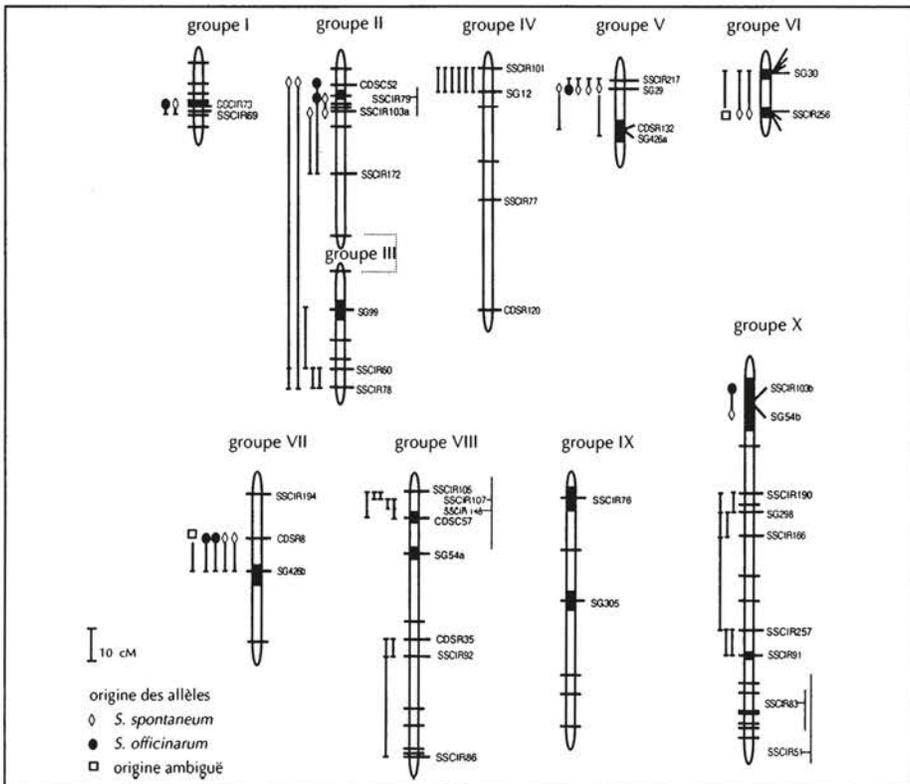


Figure 5. Distribution des déséquilibres de liaison détectés parmi 59 cultivars le long de la carte composite du cultivar R570. Les 38 sondes correspondent aux 41 locus indiqués sur la carte. Les locus dont la position est imprécise sont identifiés par une barre en T sur la droite lorsqu'il s'agit de locus isolés, par une barre noire lorsqu'il s'agit d'un groupe de locus. Les locus impliqués dans un déséquilibre de liaison sont signalés par une barre à gauche du groupe de locus. Plusieurs barres entre les locus indiquent que plusieurs associations alléliques préférentielles sont observées.

Conclusion

Les marqueurs moléculaires utilisés lors de ces études sont des RFLP. Ils permettent une caractérisation très détaillée du matériel. Quel que soit l'échantillon considéré, plus de la moitié des bandes révélées sont polymorphes. Du fait de la polyploïdie du matériel et d'une très forte hétérozygotie, chaque sonde révèle généralement plus de cinq bandes par individu. En prenant en compte quelques sondes, on porte rapidement le nombre de bandes comparées au-delà du seuil de discrimination entre les individus. A titre d'exemple, Lu *et al.* (1994b) ont proposé un ensemble de cinq sondes qui, combinées à une seule enzyme de restriction, permettent d'identifier toutes les variétés cultivées sans aucune ambiguïté. Pour les mêmes raisons, il apparaît que quelques sondes seulement suffisent à donner accès à la structure générale de la diversité interspécifique.

Les résultats confirment les hypothèses phylogénétiques antérieures et apportent des éléments complémentaires à l'échelle intraspécifique. Au sein de *S. spontaneum*, on observe un cline géographique qui oppose les formes méridionales dont le nombre chromosomique est élevé aux formes septentrionales, la variation au niveau cytoplasmique présente cependant un profil spécifique indépendant de l'origine géographique. La variation chez *S. officinarum* révèle un centre de diversité étendu sans structure forte et permet de repérer une diversité secondaire, peut-être associée à des introgressions avec d'autres compartiments du complexe.

Ces résultats indiquent que les marqueurs moléculaires, en particulier les RFLP, seront d'une grande utilité pour constituer une *core collection* de ressources génétiques de la canne à sucre. La nature du dispositif international de conservation et de gestion de ces ressources justifierait un investissement de laboratoire proche de la collection indienne, actuellement la plus riche et la mieux gérée.

En revanche, les marqueurs RFLP se révèlent inefficaces pour examiner un niveau taxonomique supérieur, en particulier celui qui permettrait d'élucider les événements, amphi ou autopolyploïdisations par exemple, qui ont abouti au complexe polyploïde *Saccharum*. D'autres modes de marquage plus globaux, comme la GISH, seront probablement plus utiles.

Parmi les cultivars modernes, les marqueurs RFLP permettent en premier lieu d'évaluer la base génétique mise en valeur par rapport aux ressources disponibles, d'analyser sa structure et de la rapporter à différentes composantes et à divers phénomènes. Malgré le faible nombre de géniteurs effectivement utilisés lors des croisements interspécifiques, on constate une très forte diversité des variétés cultivées aujourd'hui : la polyploïdie a assuré le maintien d'une large base génétique. Les déséquilibres de liaison entre marqueurs proches ouvrent des perspectives pour évaluer la contribution qualitative des premiers géniteurs en matière de gènes d'intérêt agronomique. Les progrès de la cartographie du

génomique et du marquage de ces gènes dans des descendance modèles permettront de suivre leur transmission dans le matériel sélectionné et de mettre en relation la diversité moléculaire pour des locus choisis et la diversité des caractères utiles en sélection.

Annexe

Analyse par RFLP

Les données produites se ramènent à l'identification de bandes RFLP polymorphes au sein de l'échantillon étudié et à la construction de matrices codées 0-1, correspondant à l'absence ou à la présence de ces bandes chez les accessions analysées. Comme il s'agit de clones, chaque accession a été représentée par un seul individu. L'indice de Dice a été calculé pour quantifier la similarité entre deux accessions, qui correspond au pourcentage de bandes communes par rapport au nombre de bandes présentes chez au moins une des deux accessions comparées. Les matrices ont été traitées par des AFC. Ces AFC ont été réalisées avec l'ensemble des données, puis après avoir retiré certains marqueurs ou certains individus des éléments actifs dans l'analyse. En effet, les marqueurs trop rares ou trop fréquents peuvent donner un poids excessif à certains individus et ainsi masquer une structure générale. Dans tous les cas d'analyse présentés ici, les marqueurs montrant une fréquence inférieure à 5 % ou supérieure à 95 % ont été mis en supplémentaires. La possibilité de placer certains individus en supplémentaires permet de retirer des clones très particuliers ou de situer un ensemble de clones donné dans un cadre de référence fondé sur la diversité des clones maintenus comme actifs. Nous avons utilisé cette possibilité pour examiner les contributions respectives des espèces ancestrales à la structuration de la diversité des cultivars.

Recherche de déséquilibres de liaison

Trente-huit sondes se cartographiant en 41 locus répartis sur l'ensemble du génome ont été utilisées, ce qui a permis de révéler 1 057 bandes polymorphes. Un test exact de Fisher a été effectué sur l'ensemble des données pour comparer les fréquences d'association entre les locus selon qu'ils appartiennent ou non au même groupe de liaison. Le même test a ensuite été appliqué en limitant les comparaisons aux marqueurs du même groupe de liaison, pour tester si les liaisons fortes étaient plus fréquemment porteuses d'associations alléliques bilocus.

Références bibliographiques

- ALEXANDER K.C., VISWANATHAN R., 1996. Conservation of sugarcane germplasm in India given the occurrence of new viral diseases. *In* : Sugarcane germplasm conservation and exchange, B.J. Croft *et al.* éd., Brisbane, Australie, ACIAR Proceedings n° 67, p. 19-21.
- AL-JANABI S.M., HONEYCUTT R.J., SOBRAL B.W.S., 1994. Chromosome assortment in *Saccharum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 16 : 167-172.
- ARCENEUX G., 1967. Cultivated sugarcanes of the world and their botanical derivation. *In* : XIIIth congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, p. 844-854.
- BERDING N., ROACH B.T., 1987. Germplasm collection, maintenance, and use. *In* : Sugarcane improvement through breeding, D.J. Heinz éd., Amsterdam, Pays-Bas, Elsevier, p. 143-210.
- BESSE P., MCINTYRE C.L., BERDING N., 1997. Characterisation of *Erianthus* sect. *Ripidium* and *Saccharum* germplasm (Andropogoneae: Saccharinae) using RFLP markers. *Euphytica*, 93 : 283-292.
- BLUME H., 1985. Geography of sugarcane. Berlin, Allemagne, Albert Bartens, 391 p.
- BREMER G., 1924. The cytology of sugarcane: a cytological investigation of some cultivated kinds and of their parents. *Genetica*, 5 : 97-148 ; 273-326.
- BURNER D.M., 1991. Cytogenetic analyses of sugarcane relatives (Andropogoneae: Saccharinae). *Euphytica*, 54 : 125-133.
- BURNER D.M., LEGENDRE B.L., 1993. Chromosome transmission and meiotic stability of sugarcane (*Saccharum* spp.) hybrid derivatives. *Crop Science*, 33 : 600-606.
- BURNER D.M., PAN Y.B., WEBSTER R.D., 1997. Genetic diversity of North American and Old World *Saccharum* assessed by RAPD analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44 : 235-240.
- BURNQUIST W.L., SORRELS M.E., TANKSLEY S., 1992. Characterization of genetic variability in *Saccharum* germplasm by means of restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. *In* : XXIst congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, volume 2, p. 355-365.
- COMSTOCK J.C., SCHNELL R.J., MILLER J.D., 1996. Current status of world germplasm collection in Florida. *In* : Sugarcane germplasm conservation and exchange, B.J. Croft *et al.* éd., Brisbane, Australie, ACIAR Proceedings n° 67, p. 17-18.
- CROFT B.J., 1996. Review of restrictions to free access to germplasm exchange facing Australian and other international sugar industries. *In* : Sugarcane germplasm conservation and exchange, B.J. Croft *et al.* éd., Brisbane, Australie, ACIAR Proceedings n° 67, p. 6-9.
- DANIELS J., DANIELS C.A., 1975. Geographical, historical and cultural aspects of the origin of the Indian and Chinese sugarcanes *S. barberi* and *S. sinense*. *Sugarcane Breeding Newsletter*, 36 : 4-23.
- DANIELS J., ROACH B.T., 1987. Taxonomy and evolution. *In* : Sugarcane improvement through breeding, D.J. Heinz éd., Amsterdam, Pays-Bas, Elsevier, p. 7-84.

- D'HONT A., GRIVET L., FELDMANN P., RAO S., BERDING N., GLASZMANN J.C., 1996. Characterisation of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. *Molecular and General Genetics*, 250 : 405-413.
- D'HONT A., ISON D., ALIX K., ROUX C., GLASZMANN J.C., 1998. Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of RNA genes. *Genome*, 41 : 221-225.
- D'HONT A., LU Y.H., FELDMANN P., GLASZMANN J.C., 1993. Cytoplasmic diversity in sugarcane revealed by heterologous probes. *Sugar Cane*, 1 : 12-15.
- EKSOMTRAMAGE T., PAULET F., NOYER J.L., FELDMANN P., GLASZMANN J.C., 1992. Utility of isozymes in sugarcane breeding. *Sugar Cane*, 3 : 14-21.
- FAUCONNIER R., 1991. La canne à sucre. Paris, France, Maisonneuve et Larose, Le Technicien d'agriculture tropicale, 168 p.
- GLASZMANN J.C., FAUTRET A., NOYER J.L., FELDMANN P., LANAUD C., 1989. Biochemical genetic markers in sugarcane. *Theoretical and Applied Genetics*, 78 : 537-543.
- GLASZMANN J.C., LU Y.H., LANAUD C., 1990. Variation of nuclear ribosomal DNA in sugarcane. *Journal of Genetics and Breeding*, 44 : 191-198.
- GRIVET L., D'HONT A., ROQUES D., FELDMANN P., LANAUD C., GLASZMANN J.C., 1996. RFLP mapping in cultivated sugarcane (*Saccharum* spp.): genome organization in a high polyploid and aneuploid interspecific hybrid. *Genetics*, 142 : 987-1000.
- HARVEY M., BOTHA F.C., 1996. Use of PCR-based methodologies for determination of DNA diversity between *Saccharum* varieties. *Euphytica*, 89 : 257-265.
- HEINZ D.J., 1969. Isozyme prints for variety identification. *Sugarcane Breeding Newsletter*, 24 : 8.
- JANNOO N., GRIVET L., DOOKUN A., D'HONT A., GLASZMANN J.C., 1999a. Linkage disequilibrium among sugarcane cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* (sous presse).
- JANNOO N., GRIVET L., SEGUIN M., PAULET F., DOMAINGUE R., ROA P.S., DOOKUN A., D'HONT A., GLASZMANN J.C., 1999b. Molecular investigation of the genetic base of sugarcane cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* (sous presse).
- LU Y.H., D'HONT A., PAULET F., GRIVET L., ARNAUD M., GLASZMANN J.C., 1994b. Molecular diversity and genome structure in modern sugarcane varieties. *Euphytica*, 78 : 217-226.
- LU Y.H., D'HONT A., WALKER D.I.T., RAO P.S., 1994a. Relationships among ancestral species of sugarcane revealed with RFLP using single copy maize nuclear probes. *Euphytica*, 78 : 7-18.
- MEYER J., 1989. Histoire du sucre. Paris, France, Desjonquères, 335 p.
- NAIR N.V., BALAKRISHNAN R., SREENIVASAN T.V., 1998. Variability for quantitative traits in exotic hybrid germplasm of sugarcane. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 45 : 459-464.
- PANJE R.R., 1972. The role of *Saccharum spontaneum* in sugarcane breeding. *In* : XIVth congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, p. 217-223.

- PANJE R.R., BABU C.N., 1960. Studies in *Saccharum spontaneum*: distribution and geographical association of chromosome number. *Cytologia*, 25 : 152-172.
- PRICE S., 1963. Cytogenetics of modern sugarcane. *Economic Botany*, 17 : 97-105.
- RANDS R.D., ABBOT E.V., 1964. Sereh. *In* : Sugarcane diseases of the world, C.G. Hughes *et al.* éd., Amsterdam, Pays-Bas, Elsevier, p. 183-189.
- ROACH B.T., 1978. Utilisation of *Saccharum* in sugarcane breeding. *In* : XVIth congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, p. 43-58.
- ROACH B.T., 1986. Evaluation and breeding use of sugarcane. *In* : XIXth congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, p. 492-501.
- ROACH B.T., 1992. The case for a core collection of sugarcane germplasm. *In* : XXIst congress of the International Society of Sugar Cane Technologists.
- SIMMONDS N.W., 1993. Introgression and incorporation strategies for the use of crop genetic resources. *Biological Review*, 68 : 539-562.
- SOBRAL B.W.S., BRAGA D.P.V., LAHOOD E.S., KEIM P., 1994. Phylogenetic analysis of chloroplast restriction enzyme site mutations in the Saccharinae Griseb. subtribe of the Andropogoneae Dumort. tribe. *Theoretical and Applied Genetics*, 87 : 843-853.
- SREENIVASAN T.V., AHLOOWALIA B.S., HEINZ D.J., 1987. Cytogenetics. *In* : Sugarcane improvement through breeding, D.J. Heinz éd., Amsterdam, Pays-Bas, Elsevier, p. 211-253.
- STEVENSON G.C., 1965. Genetics and breeding of sugarcane. Londres, Royaume-Uni, Longman, 284 p.
- WILLIAMS C.A., HARBORNE J.B., SMITH P., 1974. The taxonomic significance of leaf flavonoids in *Saccharum* and related genera. *Phytochemistry*, 13 : 1141-1149.