



Structure et dynamique de la diversité d'une plante cultivée à multiplication végétative : le cas des ignames au Bénin (*Dioscorea* sp.)

Nora Scarcelli

► To cite this version:

Nora Scarcelli. Structure et dynamique de la diversité d'une plante cultivée à multiplication végétative : le cas des ignames au Bénin (*Dioscorea* sp.). domain_other. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc, 2005. Français. <tel-00482798>

HAL Id: tel-00482798

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00482798>

Submitted on 11 May 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

THESE

pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Formation Doctorale : Ressources Phytogénétiques et Interactions Biologiques
Ecole Doctorale : Biologie des Systèmes Intégrés, Agronomie - Environnement

**STRUCTURE ET DYNAMIQUE DE LA DIVERSITE D'UNE PLANTE CULTIVEE A
MULTIPLICATION VEGETATIVE : LE CAS DES IGNAME AU BENIN
(*DIOSCOREA SP.*)**

par

Nora SCARCELLI

Soutenue publiquement le 22 novembre 2005 devant le jury composé de :

Joël CUGUEN, Professeur, Université de Lille 1
Rémy PETIT, Directeur de recherche, INRA Pierroton
Isabelle OLIVIERI, Professeur, Université Montpellier II
Mohammed SADIKI, Professeur, IAV Hassan II, Rabat, Maroc
Serge HAMON, Directeur de recherche, IRD Montpellier
Jean-Louis PHAM, Chargé de recherche, IRD Montpellier

Rapporteur
Rapporteur
Présidente
Examineur
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse

UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

THESE

pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Formation Doctorale : Ressources Phytogénétiques et Interactions Biologiques
Ecole Doctorale : Biologie des Systèmes Intégrés, Agronomie - Environnement

**STRUCTURE ET DYNAMIQUE DE LA DIVERSITE D'UNE PLANTE CULTIVEE A
MULTIPLICATION VEGETATIVE : LE CAS DES IGNAME AU BENIN
(*DIOSCOREA SP.*)**

par

Nora SCARCELLI

Soutenue publiquement le 22 novembre 2005 devant le jury composé de :

Joël CUGUEN, Professeur, Université de Lille 1
Rémy PETIT, Directeur de recherche, INRA Pierroton
Isabelle OLIVIERI, Professeur, Université Montpellier II
Mohammed SADIKI, Professeur, IAV Hassan II, Rabat, Maroc
Serge HAMON, Directeur de recherche, IRD Montpellier
Jean-Louis PHAM, Chargé de recherche, IRD Montpellier

Rapporteur
Rapporteur
Présidente
Examinateur
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Et voilà trois ans de ma vie qui viennent de s'écouler. Il est difficile de nommer et remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de mon travail de thèse. Je vais donc essayer de n'oublier personne.

Tout d'abord, je tiens à remercier Joël Cuguen et Rémy Petit pour avoir accepté le pénible travail de rapporteur, même si je suis déçue qu'ils n'aient pas eu la possibilité de venir à ma soutenance. Il fallait bien que l'une des très nombreuses grèves SNCF ait lieu précisément le 22 novembre ! Je remercie aussi mes deux autres membres du jury : Isabelle Olivieri qui, malgré son emploi du temps surchargé, a accepté d'examiner ce travail, et Mohammed Sadiki, qui s'est déplacé du Maroc.

Faisons ensuite les choses dans l'ordre. A l'IRD, je remercie sincèrement Jean-Louis Pham, mon "co-directeur" de thèse, directeur dans les faits, déjà pour m'avoir fait confiance en m'acceptant en thèse, ensuite pour m'avoir accompagnée et supportée pendant ces trois ans. Je n'oublie pas non plus que grâce (?) à lui je suis partie trois fois au cœur de la savane béninoise, des expériences qui ne s'oublient pas.

Je pense bien sûr à Serge Hamon, qui a accepté la charge de directeur de thèse "administratif". J'ai apprécié qu'au-delà des signatures dont j'avais besoin il ait participé à mes comités de thèse, rédactions d'articles et à la correction de ce manuscrit.

Comment oublier Serge Tostain, qui m'a tout appris des mystères de l'igname et qui m'a fait courir dans la savane béninoise sous un soleil de plomb à la recherche des ignames sauvages ?

IRD toujours, je pense bien sûr à Yves Vigouroux. Yves a toujours un nouveau test à faire, une nouvelle formule à redémontrer. Bon, même si je n'arrivais pas toujours à le suivre dans ses délires il m'a quand même fait découvrir qu'il n'y pas que les ACP dans la vie.

Il y a aussi Cédric Mariac, qui m'a tout enseigné du travail de labo (et il y avait du boulot puisque je suis arrivée en DEA sans savoir ce qu'était une PCR !) et qui s'est toujours montré patient même quand je le harcelais vingt fois par jour avec mes contaminations.

Je remercie aussi Julien Berthaud pour avoir relu et, corrigé l'une des premières versions de ce manuscrit.

Merci à Viviane Luong, qui n'est plus chez DYNADIV mais qui m'a énormément aidée dans ma dernière grosse série de génotypage. Même si on a pas mal galéré à cause des contaminations, les résultats sont là !

Du côté INRA, je remercie tout d'abord Joëlle Ronfort et Jacques David pour leur gentillesse et leur implication dans mes comités de thèse, les rédactions d'articles (en pointillée) et la rédaction de ce manuscrit.

Je n'oublie pas non plus le labo de Sylvain Santoni, avec notamment Charles Poncet et Isabelle Hochu, dépositaires de l'ABI et auprès de qui j'ai souvent râlé à cause des pannes et autres bugs qui semblaient toujours s'acharner sur moi.

Je remercie aussi Jean-Louis Noyer (CIRAD) et Doyle McKey (CEFE) pour avoir participé à mes comités de thèse.

Au Bénin, mon travail n'a été possible que grâce au Laboratoire de Génétique de Cotonou et ses deux représentants Clément Agbangla et Ogoubi Dainou. Merci à eux.

Sur le terrain, j'ai pu bénéficier des compétences de Nasser Baco (INRAB), qui a toujours réussi à prendre sur son temps de travail pour m'accompagner dans les villages faire mes enquêtes et mes échantillonnages.

Enfin je me dois de rendre hommages aux paysans béninois. Tous ont gentiment accepté de collaborer avec moi, passant parfois des heures à répondre à mes questions et n'hésitant jamais à me fournir le matériel végétal nécessaire à ce travail.

Merci à tous les stagiaires, CDD et autres que j'ai rencontré à l'IRD : Thomas, pour nos débats passionnés sur les qualités de Schumacher et les défauts de Montoya, Carol et Freddy, pour m'avoir fait découvrir les produits remboursés, Erika (enfin quelqu'un avec qui je peux parler mangas et DA japonais !), Panida, ma thaïlandaise préférée (finalement j'aurais fini ma thèse avant que tu te maries), Bénédicte, pour les soirées plages et mon prof de Thai Chi Chuan, Philippe Chevalier, qui m'a apporté calme et sérénité chaque matin pendant deux ans. Dans le désordre, je n'oublie pas non plus José et toute sa famille, Mahesh et Anu, Samson, Léna, Claudine, Valérie, Oulo, Amidou, Issa, Emeline, Laure, Salwa et Marie-Charlotte. J'ai toujours eu l'impression d'être une étrangère à Montpellier, grâce à vous je me suis sentie très vite chez moi à l'IRD, merci !

La liste ne serait pas complète sans Shishigami, inoubliable copine de fac grâce à qui j'ai explosé mes forfaits de téléphone et Tatarigami, pour tous les mails auxquels il n'a pas répondu et les nouvelles qu'il n'a pas données.

Bien sûr je n'oublie ma famille, qui m'a toujours beaucoup soutenue et m'a donné le courage de continuer quand je n'avais pas le moral. Je remercie en particulier mes parents, qui n'ont jamais hésité à faire l'aller-retour Chaumont/Montpellier dans la journée pour soigner mes gros coups de déprime de DEA.

Pour conclure, je me sens obligée de mentionner M. Schumacher et Ferrari, que je ne remercie pas pour tous ces week-end calamiteux, ces lundis où j'étais de mauvaise humeur et où ma propre équipe (Jean-Louis, Cédric et Yves pour ne pas les citer) s'est acharnée sur moi à l'heure du café à cause d'eux !!!!

SOMMAIRE

INTRODUCTION	10
I. STRUCTURE ET DYNAMIQUE DES PLANTES CULTIVEES EN MILIEU TRADITIONNEL	13
A. Interactions entre pratiques paysannes et forces évolutives	13
B. Utilisation paysanne de la diversité des espèces sauvages apparentées aux espèces cultivées	16
C. Le cas des plantes cultivées à multiplication végétative	18
II. L'IGNAME	21
A. L'igname en Afrique de l'Ouest	23
1. Quelques aspects culturels sur l'igname en Afrique	25
2. Les espèces cultivées et leur classification	27
3. <i>Dioscorea rotundata</i> , principale espèce cultivée	31
4. Le système de culture	35
5. Les espèces sauvages	37
6. Niveau de ploïdie des ignames ouest africaines	39
B. Gestion paysanne, reproduction sexuée et diversité de l'igname cultivée <i>D. rotundata</i>	40
1. Concept de variété chez l'igname	41
2. Gestion variétale et structuration génétique	42
3. Reproduction sexuée et ennoblissement : des sources potentielles de diversité	44
a. La pratique de l'ennoblissement	44
b. Etat des connaissances génétiques sur la pratique de l'ennoblissement	48
III. LE BENIN, PAYS D'ETUDE	50
IV. OBJECTIFS DE L'ETUDE	54
CHAPITRE I. LE NIVEAU DE PLOÏDIE DE L'IGNAME	58
ARTICLE I : SEGREGATION PATTERNS OF ISOZYME LOCI AND MICROSATELLITE MARKERS SHOW THE DIPLOIDY OF AFRICAN YAM <i>DIOSCOREA ROTUNDATA</i> (2N=40)	60
CHAPITRE II. ENNOBLISSEMENT ET REPRODUCTION SEXUEE	68
I. HYBRIDATIONS INTERSPECIFIQUES	70
A. Matériel et méthodes	70
1. Echantillonnage	70
2. Analyses de paternité	71
a. Utilisation des logiciels existants	71
b. Développement d'une nouvelle méthode	71
B. Résultats	77
II. ENNOBLISSEMENT ET CREATION VARIETALE	78

A. Matériel et méthodes.....	78
1. Echantillonnage	78
2. Analyses génétiques des données AFLP	81
3. Analyses génétiques des données microsatellites	82
a. F-statistiques	82
b. Tests d'assignation	84
<i>Méthode basée sur les distances génétiques</i>	84
<i>Méthode basée sur les fréquences</i>	84
<i>Méthodes bayésiennes</i>	85
<i>Choix des méthodes d'assignation utilisées</i>	87
B. Résultats	88
ARTICLE II : GENETIC NATURE OF YAMS (<i>DIOSCOREA</i> SP.) DOMESTICATED BY FARMERS IN BENIN (WEST AFRICA)	89
ARTICLE III : FARMERS' USE OF SEXUAL REPRODUCTION IN A VEGETATIVELY PROPAGATED CROP. THE CASE OF YAM FARMERS IN BENIN	100
C. Résultats complémentaires	121

CHAPITRE III. STRUCTURATION GENETIQUE ET GESTION VARIETALE ___ 124

I. MATERIEL	128
A. Réseau de circulation des tubercules	128
B. Echantillonnage.....	129
1. Structure et diversité génétique des variétés.....	129
2. Structure et diversité génétique des champs d'igname	129
C. Génotypage et identification des clones	131
II. ANALYSES GENETIQUES	135
A. Pouvoir de discrimination des marqueurs	135
B. Relation entre clones : arbres et réseaux	136
C. Structuration clonale.....	136
D. Test d'Ewens-Watterson	137
III. RESULTATS	146
A. Diversité génétique globale et puissance des microsatellites	146
B. Structure et diversité variétale : clones, mutations et reproduction sexuée.....	146
1. Diversité clonale et relation entre les clones	146
2. Diversité génétique des variétés-nom	152
a. Différences génétiques entre les variétés-nom	152
b. Diversité génétique à l'intérieur des variétés-nom	154
3. Diversité génétique des variétés-paysan.....	156
a. Organisation de la diversité entre les variétés-paysan de même nom.....	156
b. Relation entre les flux de tubercules et la diversité des variétés-paysan.....	158
C. Structure et diversité génétique des champs d'igname.....	160
1. Diversité clonale et relation entre ces clones.....	160
2. Différenciation génétique des champs d'igname.....	165
3. Mise en évidence de la diffusion de produits de l'ennoblissement.....	167
4. La répartition des clones dans les champs dépend-elle des choix paysans ?.....	169
IV. DISCUSSION	174

A. Structuration génétique et gestion paysanne.....	174
1. Classification paysanne vs classification génétique.....	174
2. Comment s'organise la diversité génétique entre les paysans ?	176
B. Reproduction sexuée ou mutation : d'où vient la diversité des ignames cultivées ?..	180
DISCUSSION GENERALE. CONCLUSION	183
I. SYNTHÈSE DES RESULTATS	184
A. Niveau de ploïdie.....	184
B. Hybridations interspécifiques et ennoblissement	184
C. Structuration génétique et gestion variétale.....	187
II. LE NIVEAU DE PLOÏDIE DE L'IGNAME REVISITE	188
III. EVOLUTION DE LA DIVERSITÉ CHEZ UNE PLANTE A MULTIPLICATION VEGETATIVE EN RELATION AVEC LES PRATIQUES PAYSANNES	190
A. Un mode de reproduction mêlant sexualité et asexualité au sein d'un complexe sauvage-cultivé.....	190
1. Comparaison du cas de l'igname à celui d'autres plantes à multiplication végétative	190
2. Les avantages d'un mode de reproduction mixte. La théorie.	192
3. Les avantages d'un mode de reproduction mixte. Le rôle du paysan.	194
B. Interactions entre le mode de reproduction et les pratiques paysannes.....	195
C. Evolution du complexe sauvage/cultivé	198
IV. QUELQUES IMPLICATIONS POUR LA CONSERVATION DES RESSOURCES GENETIQUES DE L'IGNAME	200
A. Ennoblement et définition des espèces d'ignames.....	201
B. Conservation <i>ex situ</i>	201
C. Conservation <i>in situ</i>	206
REFERENCES	210
ANNEXE	222

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Facteurs influençant la gestion paysanne de la diversité des plantes cultivées...	14
Figure 2. Répartition des pays consommateurs d'igname.....	22
Figure 3. Aire de la "Yam zone".....	24
Figure 4. Modes de préparation de l'igname.....	26
Figure 5. L'origine des espèces cultivées <i>D. rotundata</i> et <i>D. cayenensis</i> selon Terauchi et al. (1992) et Hamon (1987).....	30
Figure 6. Illustration de la diversité rencontrée chez l'espèce cultivée <i>D. rotundata</i>	32
Figure 7. Fleurs et fruits observés chez <i>D. rotundata</i>	34
Figure 8. Champs d'ignames cultivées.....	36
Figure 9. Répartition des deux espèces sauvages <i>D. abyssinica</i> et <i>D. praehensilis</i> en Afrique de l'Ouest.....	38
Figure 10. <i>D. abyssinica</i>	38
Figure 11. <i>D. praehensilis</i>	38
Figure 12. Illustration des trois étapes de l'ennoblissement.....	47
Figure 13. Situation géographique du Bénin.....	51
Figure 14. Répartition des climats et des grands types de végétation au Bénin.....	51
Figure 15. Répartition géographique des villages d'étude.....	53
Figure 16. Structuration de la diversité génétique des ignames : hypothèses de travail.....	56
Figure II-1. Zones de collecte des individus cultivés et pré-ennoblis.....	80
Figure II-2. Positions géographiques des individus sauvages <i>D. abyssinica</i> et <i>D. praehensilis</i> collectés pour l'analyse de l'ennoblissement au niveau national.....	80
Figure II-3. Geographical origin of analysed samples.....	105
Figure II-4. Assignment of yam samples to wild and cultivated species.....	108
Figure II-5. LOD score distribution obtained by simulation.....	111
Figure II-6. Assignment of pre-ennobled yams from the large-scale analysis.....	113
Figure III-1. Nombre théorique d'individus différents non distinguables avec les marqueurs utilisés.....	147
Figure III-2. Arbre consensus des clones obtenus dans l'échantillonnage des variétés....	149
Figure III-3. Minimum Spanning Network (MSN) représentant les relations entre les clones spécifiques des groupes de clones obtenus dans l'analyse de la diversité des variétés.....	151
Figure III-4. Arbre consensus des variétés-nom.....	154
Figure III-5. Fréquence des clones dans les variétés-paysan, récoltées chez des paysans différents mais portant le même nom.....	157
Figure III-6. Nombre de clones observés par variété-paysan.....	161
Figure III-7. Arbre consensus des clones obtenus dans l'échantillonnage des champs....	163
Figure III-8. Minimum Spanning Network (MSN) représentant les relations entre les clones spécifiques des groupes de clones obtenus dans l'analyse de la diversité des champs.....	164
Figure III-9. Relation entre le nombre de clones observés dans un champ et le nombre de variétés cultivées dans un champ.....	172
Figure III-10. Résumé des trois hypothèses pouvant expliquer d'observer à la fois une structuration des variétés forte et une structuration des champs faible.....	178
Figure 17. Illustrations des données actuelles sur le flux sauvage/cultivé lié à l'ennoblissement.....	185

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques des principales espèces d’igname cultivées en Afrique.....	28
Tableau II-1. Calcul de la vraisemblance d’un gamète de venir d’une population.....	73
Tableau II-2. Ancestry analysis of samples with an admixed genotype.....	108
Tableau II-3. Paternal origin of progeny of sympatric wild and cultivated yams.....	111
Tableau II-4. Diversity analysis of the cultivated species (<i>D. rotundata</i>) and the two wild species (<i>D. abyssinica</i> and <i>D. praehensilis</i>) in the large-scale analysis.....	113
Tableau II-5. Comparaison des assignations d’individus pré-ennoblis.....	122
Tableau III-1. Echantillonnage réalisé pour analyser la diversité variétale des ignames cultivées.....	130
Tableau III-2. Echantillonnage réalisé pour analyser la diversité génétique des champs d’ignames.....	132
Tableau III-3. Pourcentage d’erreur observé par locus.....	134
Tableau III-4. Diversité révélée par les microsatellites utilisés pour l’échantillonnage des variétés (485 individus) et des champs (284 individus).....	147
Tableau III-5. Répartition des clones dans les variétés-nom analysées et relation entre ces clones.....	155
Tableau III-6. Répartition des clones dans les variétés-paysan analysées et relation entre ces clones.....	157
Tableau III-7. Valeurs de CL_{st} (différenciation clonale) et F_{st} (différenciation allélique) calculés entre les variétés-paysan portant le même nom.....	159
Tableau III-8. Répartition des clones dans les champs analysés et relation entre ces clones.....	166
Tableau III-9. Valeurs de CL_{st} (différenciation clonale) et F_{st} (différenciation allélique) calculés entre les champs des différents paysans.....	166
Tableau III-10. Valeurs de CL_{st} calculés entre les champs des différents paysans sur les groupes de clones.....	166
Tableau III-11. Valeurs de CL_{st} obtenues pour chaque clone lors de l’analyse de la différenciation clonale entre les champs des paysans.....	168
Tableau III-12. Résultats du test d’Ewens-Watterson pour chaque champ analysé.....	171

LISTE DES ENCADRES

Encadré I. Exemple d’assignation à partir d’une méthode bayésienne.....	86
Encadré II. Signification biologique du CL_{st}	138
Encadré III. Théorie d’échantillonnage d’Ewens (1972).....	141
Encadré IV. Quelles sont les bases biologiques de l’ennoblissement ?.....	202

INTRODUCTION

En 1996, la FAO reconnaît officiellement le rôle des agriculteurs dans l'origine et le maintien des ressources génétiques végétales : "We acknowledge the role played by generations of men and women farmers and plant breeders, and by indigenous and local communities, in conserving and improving plant genetic resources" (FAO 1996). Cette reconnaissance se fonde sur l'évidence que les agriculteurs, à travers des siècles de domestication, de gestion et de sélection, ont façonné la diversité des plantes cultivées et sur le constat que cette action perdure dans certaines parties du monde. En effet, dans les agrosystèmes traditionnels, notamment dans les centres de diversité, les agriculteurs régénèrent le plus souvent chaque année leurs lots de semences à partir de leurs récoltes et continuent de cultiver des variétés présentant une diversité génétique forte.

Si le rôle des agriculteurs dans la diversité des ressources génétiques cultivées est une évidence, les processus impliqués sont inégalement connus selon les espèces et les situations agroécologiques. Ceci est particulièrement vrai au niveau génétique. L'objectif général de cette thèse est de comprendre comment les pratiques paysannes contribuent à la structuration et à la dynamique de la diversité d'une plante à multiplication végétative, l'igname (*Dioscorea* sp.) au Bénin, cultivée en agrosystème traditionnel, en relation avec les espèces sauvages apparentées.

Cette thèse est structurée en cinq grandes parties :

- La première partie présente tout d'abord une introduction générale sur les différents facteurs influençant la structuration et la dynamique des plantes cultivées en agrosystèmes traditionnels. L'igname étant un modèle peu commun, nous présenterons ensuite une description relativement détaillée de la plante et de son mode de culture. Elle sera suivie d'une brève description du Bénin, le pays d'étude. Enfin, les objectifs de cette thèse seront détaillés.
- Le chapitre I expose nos résultats sur le niveau de ploïdie de l'igname. Il était en effet indispensable d'avoir une idée précise du niveau de ploïdie de l'igname avant de pouvoir engager une étude génétique.
- Dans le chapitre II, nous verrons comment les cultivateurs d'ignames contribuent à la diversification des ignames cultivées en utilisant la reproduction sexuée des ignames cultivées ainsi que la diversité des ignames sauvages apparentées.

- Le chapitre III décrit les résultats obtenus concernant les conséquences de la gestion paysanne et de l'utilisation de la reproduction sexuée des ignames sauvages et cultivées sur la structuration variétale.
- Enfin, dans une dernière partie, nous synthétiserons nos résultats et nous les discuterons dans le cadre général de l'évolution de la diversité des plantes à multiplication végétative et de la conservation des ressources génétiques.

I. Structure et dynamique des plantes cultivées en milieu traditionnel

La gestion paysanne de la diversité est directement influencée par différents facteurs sociaux, économiques, culturels et environnementaux (Figure 1). La stratégie de culture des paysans intègre en effet à la fois des données telles que l'hétérogénéité environnementale, la gestion des risques, les obligations et consensus sociaux (Bellon et al. 1997). Elle dépend aussi de l'accès aux marchés, aux intrants et des politiques agricoles. Nous présenterons ici quelques éléments sur la contribution des paysans à l'organisation et à la dynamique de la diversité des plantes cultivées en milieu traditionnel.

A. Interactions entre pratiques paysannes et forces évolutives

Les pratiques paysannes tiennent une place centrale dans la structuration et la dynamique de la diversité des plantes cultivées en milieu traditionnel. En effet, elles se combinent aux caractéristiques biologiques des plantes (ex. système de reproduction) et aux pressions environnementales (ex. variabilité environnementale, pathogènes) et influencent la plupart des forces évolutives (dérive, sélection et migration). Seule la mutation n'est pas, *a priori*, directement affectée par les pratiques paysannes.

La dérive correspond à une modification aléatoire des fréquences alléliques en raison de l'échantillonnage aléatoire de ces allèles à chaque génération. Elle conduit à une perte de diversité. Son effet est d'autant plus fort que les surfaces cultivées par les paysans sont petites et que la quantité de semences utilisées à chaque génération est faible. Chez le maïs par exemple, les paysans de Cuzalapa (Mexique) utilisent moins de 100 épis pour renouveler leurs semences dans plus de 50% des variétés, ce qui entraîne théoriquement la perte des allèles dont la fréquence est inférieure à 5% (Louette 1994). Cependant, les agrosystèmes traditionnels n'étant pas fermés, les agriculteurs ont la possibilité de régénérer la diversité perdue par dérive (notamment par la migration des semences).

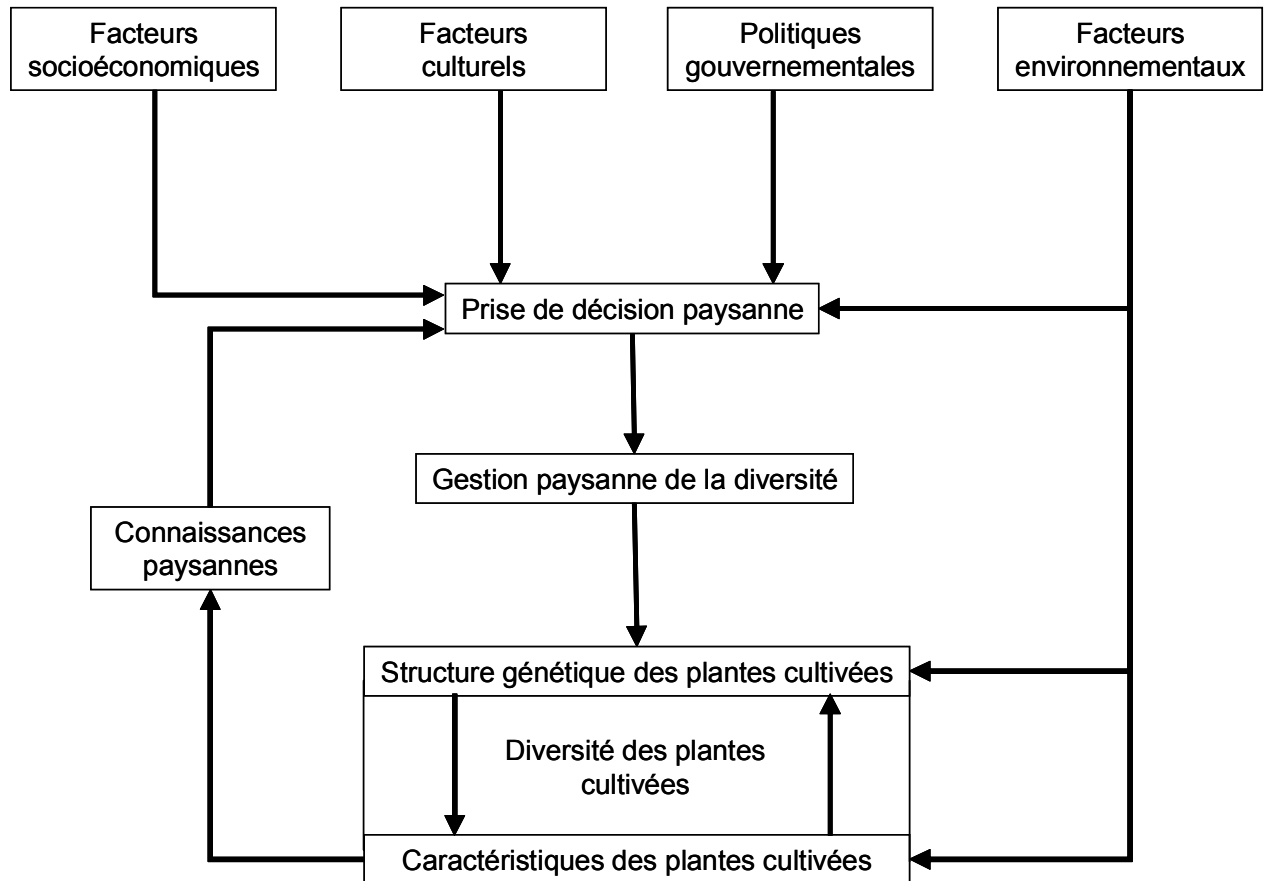


Figure 1. Facteurs influençant la gestion paysanne de la diversité des plantes cultivées (D'après Bellon et al. 1997).

La sélection, naturelle ou paysanne, peut induire des modifications des structures génétiques en favorisant ou au contraire en éliminant certains génotypes. Des pressions environnementales (type de sol, climat, maladie) peuvent entraîner des différences dans la valeur sélective des individus. Cette pression de sélection peut être confondue avec la sélection paysanne si le paysan sélectionne des plantes adaptées aux conditions environnementales en question (Jarvis et al. 2000). La sélection paysanne s'applique soit directement sur les plantes, par élimination d'une partie des plantes après la germination (ex. mil, Couturon et al. 2003, manioc, Pujol et al. 2005), soit sur les semences. Pressoir et Berthaud (2004b) ont montré que la sélection massale des semences sur des critères phénotypiques bien définis (couleur des grains, forme de l'épi) permet de maintenir une différenciation phénotypique forte entre les variétés de maïs, malgré les flux de pollen importants liés à la nature allogame du maïs.

Les possibilités de migration sont contraintes à la fois par le système de reproduction de la plante (flux de pollen, indépendant du paysan), par le mode d'acquisition des semences (flux de semences, directement dépendant du paysan) et par la répartition spatiale des parcelles de culture. Un système de reproduction autogame favorise une structuration génétique forte (Schoen et Brown 1991) : les paysans sont en mesure de sélectionner des variétés relativement homogènes génétiquement. En conséquence, on attend une forte différenciation des variétés, même à l'échelle d'un village. Au contraire, un système de reproduction allogame défavorise le maintien d'une structuration génétique : les flux de pollen contribuent à l'homogénéisation génétique à l'échelle locale. Ainsi, même si le paysan sélectionne ses semences sur des caractères morphologiques, les variétés sont attendues peu différenciées des autres variétés d'un même village.

L'impact du flux de semences dépend du mode d'acquisition des semences par les paysans et peut contribuer à renforcer ou à limiter cette structuration. En agrosystème traditionnel, les paysans sélectionnent leurs semences dans leurs propres récoltes. Cependant, une partie des semences peut être achetée et peut donc induire un flux de semences entre des régions parfois très éloignées, limitant ainsi la structuration génétique, même à une échelle régionale.

Des études menées sur le maïs (allogame) à l'aide de marqueurs neutres confirment la forte diversité intra-population et la faible structuration intra- et inter-villages (Pressoir et Berthaud 2004a). Cette faible structuration peut s'expliquer dans un même village par la

culture en parcelles contiguës de différentes variétés et par l'absence d'isolement reproducteur, alors qu'entre des villages très éloignés, elle s'explique par des flux de semences très importants : jusqu'à 50% des semences ne proviennent pas de la récolte antérieure du paysan (Louette 1994). Chez le mil (allogame) au Niger, des flux de semences très importants, liés notamment à des sécheresses récurrentes limitant les récoltes, induisent non seulement une différenciation génétique intra- et inter-villages faible, mais aussi la présence de plantes hybrides sauvage/cultivé dans des régions où l'espèce sauvage n'existe pas (Robert et al. 2004). Dans ce cas, les observations confirment le modèle théorique présenté. Au contraire, des études sur l'orge ou le riz (autogames) indiquent une diversité intra-population forte, contradictoire avec le modèle théorique présenté (Miezan et Ghesquière 1986, Alemayehu et Parlevliet 1997 et Dakir et al. 2002). Dans le cas du riz en Afrique, Bezançon (1993) rapporte que des paysans n'utilisent pas de variétés homogènes mais un composite de plusieurs formes. Selon Portères (1957), ce "compagnonnage agraire" concerne des formes ayant des caractéristiques phénotypiques communes. Les variétés composites cultivées sont volontairement maintenues hétérogènes par les paysans (Miezan et Ghesquière 1986), bien que, d'après le mode de reproduction du riz, on attende des variétés homogènes génétiquement. Dans ce cas, l'action du paysan s'oppose au mode de reproduction de la plante et modifie la structuration génétique des variétés. Cet exemple illustre bien le rôle central que jouent les pratiques paysannes dans l'organisation de la diversité des plantes cultivées en milieu traditionnel.

B. Utilisation paysanne de la diversité des espèces sauvages apparentées aux espèces cultivées

Les espèces sauvages apparentées aux plantes cultivées font l'objet d'une large utilisation de type extractiviste. Cependant, nous nous concentrerons ici sur l'utilisation par les paysans des espèces sauvages pour enrichir la diversité des espèces cultivées.

Harlan (1975) définit le pool génétique primaire comme l'ensemble des formes s'hybridant aisément et dont les descendants sont fertiles. Le pool génétique primaire regroupe les formes cultivées et sauvages apparentées mais aussi les éventuelles formes

adventices. En situation de sympatrie, et selon la nature allogame ou autogame de l'espèce cultivée, on attend donc une proportion plus ou moins grande d'hybridations. Ces hybridations contribuent à l'évolution du complexe sauvage/cultivé car des introgressions de caractères sauvages dans les espèces cultivées et réciproquement sont alors possibles. Ces capacités d'hybridation ont été utilisées par les sélectionneurs pour introduire des caractères sauvages d'intérêt dans les espèces cultivées (ex. Auriou et al. 1992).

Certains auteurs supposent qu'en agrosystème traditionnel, les paysans exploitent la diversité des espèces sauvages apparentées aux espèces cultivées (ex. Wilkes 1977, Altieri et Merrick 1987). Ceci sous-entend que les paysans puissent manipuler directement les plantes sauvages ou leurs descendances. Parallèlement, ces auteurs supposent aussi que la sélection paysanne permet d'introgesser des caractères d'intérêt dans les variétés cultivées. Cependant, bien que ces idées soient avenantes, notamment pour argumenter en faveur de la conservation *in situ*, aucune étude génétique n'a permis de démontrer cette utilisation de la diversité sauvage par les paysans en agrosystème traditionnel (Wood et Lenné 1997).

Certes, l'existence d'introgessions de caractères sauvages dans le compartiment cultivé a été montrée chez de nombreuses espèces cultivées (revue dans Jarvis et Hodgkin 1999), tant chez des allogames (maïs, luzerne, betterave, mil, pomme de terre...) que chez quelques autogames (riz, blé, sorgho, tomate...), à l'aide de marqueurs morphologiques ou génétiques. Mais le rôle direct du paysan dans ces introgressions, c'est-à-dire la sélection consciente de plantes issues de rétrocroisement, suggéré chez quelques plantes (ex. maïs, mil, pomme de terre, choux, riz, revue dans Jarvis et Hodgkin 1999), n'a pas été démontré.

La situation la mieux documentée est celle du maïs décrite par Wilkes (1977), sans que la démonstration soit pour autant concluante. Cet auteur décrit ainsi la culture du maïs dans six régions du Mexique. Dans la plupart des régions, la téosinte (*Zea mays* spp. *mexicana*) est éliminée des champs car les populations locales estiment qu'elle "abîme" le maïs cultivé. Cependant, dans la vallée de Nobogame, les paysans cultiveraient des hybrides téosinte/maïs. Dans cette région, la téosinte n'est pas isolée spatialement du maïs cultivé et leurs floraisons sont partiellement synchrones. Il en résulte la formation de plantes morphologiquement hybrides. Les paysans affirment qu'en cultivant trois ans les plantes hybrides, ils obtiennent du maïs de bonne qualité. Certains paysans pensent même que les grains obtenus seraient plus "forts". Ceci sous-entend qu'en trois cycles de rétrocroisements avec un parent cultivé, le phénotype cultivé serait rétabli avec un avantage lié au génome sauvage introgressé. Cependant, l'étude de Wilkes (1977) ne met pas en évidence l'existence

de ces plantes introgressées dans le pool cultivé local. En effet, si des hybrides F1 sont facilement reconnaissables, l'auteur précise que les rétrocroisements sont difficilement reconnaissables. Doebley et al. (1987) indiquent par ailleurs que les introgressions de la téosinte vers le maïs sont extrêmement réduites. De plus, le gain apporté par les introgressions potentielles n'est pas démontré. L'existence supposée du flux de gènes de la téosinte vers le maïs et de l'avantage que peuvent en tirer les paysans repose donc uniquement sur la base d'informations ténues sur les perceptions paysannes.

Wood et Lenné (1997) estiment que l'hybridation naturelle des formes sauvages et cultivées peut au contraire avoir des effets négatifs, notamment en générant des formes adventices hybrides et en introgressant dans les formes cultivées des caractères délétères. Au Niger, par exemple, la présence de formes adventices dans les champs concurrence la production de mil. La proximité des formes sauvages, les fortes possibilités d'hybridation et l'impossibilité des paysans de sélectionner correctement leurs semences (faible production, achat de semences non contrôlées) conduisent au maintien des formes adventices et seraient une menace pour l'intégrité des variétés cultivées (Robert et al. 2004).

C. Le cas des plantes cultivées à multiplication végétative

En raison du mode de reproduction supposé asexué des plantes cultivées à multiplication végétative, on attend une structuration génétique forte entre variétés. L'idée sous-jacente est que, la domestication s'est appuyée sur une large diversité génétique créée par la reproduction sexuée. Chaque variété aurait ainsi été domestiquée à partir d'un seul individu, différent d'une variété à l'autre. Les variétés seraient donc composées d'un seul génotype, à la mutation près, et seraient très différentes génétiquement des autres variétés, car correspondant à des événements différents de reproduction sexuée. En l'absence de régénération de la diversité autre que la mutation, cette diversité créée et mise en culture se serait progressivement érodée.

On a longtemps considéré que la seule source de diversité chez les plantes à multiplication végétative était la mutation (Zohary 1984). Comme la mutation ne crée que des génotypes extrêmement proches génétiquement des génotypes d'origine, la diversité

génétique attendue chez ces plantes est faible. Pourtant différentes études ont mis en évidence une très grande diversité génétique chez des plantes cultivées à multiplication végétative (ex. pomme de terre : Brush et al. 1995, patate douce : Zhang et al. 1998, manioc : Elias et al. 2000, taro : Lakhanpaul et al. 2003, igname : Mignouna et al. 2003), incompatible avec l'érosion attendue de la diversité d'origine et que la seule accumulation de mutations ne peut pas expliquer. Cette hypothèse de la création de diversité par la seule mutation est donc maintenant remise en question, non seulement car de nombreuses espèces cultivées par multiplication végétative ont conservé leur aptitude à se reproduire sexuellement mais aussi car des études à caractère ethnobotanique suggèrent que la reproduction sexuée de ces espèces est utilisée par les paysans et contribuerait ainsi à la diversité des formes cultivées.

Les cas de la pomme de terre et du manioc ont été étudiés à de nombreuses reprises. Ces deux plantes sont cultivées en agrosystèmes traditionnels et sont multipliées par voie asexuée (plantation de tubercules pour la pomme de terre et de boutures de tiges pour le manioc). Ces deux plantes ont cependant conservé leur aptitude à se reproduire sexuellement et sont allogames. Selon Jonhs et Keen (1986), les graines de pomme de terre sont en mesure de germer dans les champs et les tubercules produits peuvent être récoltés par les paysans. La grande diversité morphologique des tubercules et la classification assez imprécise en variété faciliteraient grandement le mélange de nouveaux tubercules dans les variétés. Quelques cas ont aussi été rapportés par Jonhs et Keen (1986) et par Quiros et al. (1992) de paysans semant volontairement des graines de pomme de terre récoltées sur des variétés cultivées. Ce passage par la sexualité permettrait, selon les paysans, d'assainir les plantes. Ces auteurs concluent que les paysans introduisent de nouveaux génotypes dans le pool cultivé en utilisant la reproduction sexuée de la pomme de terre. Chez le manioc, Empereire et al. (1998) et Elias (2000) rapportent que le principe de culture sur brûlis permet à des banques de graines de germer dans les nouveaux champs de manioc. Les jeunes manioc issus de semis ne sont pas systématiquement éliminés par les paysans : les plantes présentant une morphologie intéressante sont récoltées et attribuées à une variété proche morphologiquement.

Ces deux exemples suggèrent que l'utilisation de la reproduction sexuée par les paysans est un facteur important à prendre en compte pour comprendre l'évolution de la diversité des plantes cultivées à multiplication végétative. En apportant de nouvelles combinaisons génétiques ou de nouveaux allèles, la reproduction sexuée contribuerait en effet à la diversification et à l'évolution du pool cultivé. De plus, la mise en évidence de l'intégration de plantes issues de reproduction sexuée dans les variétés modifie la vision que l'on avait jusqu'à présent de ces dernières : au lieu d'être constituées de quelques génotypes

dérivant les un des autres par mutation, les variétés sont attendues polymorphes génétiquement et constituées de génotypes très différents créés par la reproduction sexuée.

Nous nous sommes intéressés à une autre plante à multiplication végétative, l'igname (*Dioscorea* sp.). Bien qu'elle soit une plante alimentaire majeure pour certains pays tropicaux, l'igname reste encore peu étudiée. Nous allons voir que de nombreuses questions se posent, tant sur l'utilisation paysanne de la reproduction sexuée des ignames sauvages et cultivées, que sur les conséquences de cette utilisation sur la structure génétique des variétés d'ignames.

II. L'igname

L'igname est une monocotylédone de la famille des Dioscoréacées, du genre *Dioscorea*. Plus de 600 espèces ont été décrites (Coursey 1976) et vivent essentiellement dans les pays tropicaux. Les ignames sont des lianes produisant des organes de réserve sous forme de tubercules ou de rhizomes.

L'igname cultivée produit un tubercule riche en amidon. Par rapport à d'autres plantes à racines et tubercules (manioc, pomme de terre, patate douce), c'est une plante qui permet de mieux couvrir les besoins énergétiques, ainsi que les besoins en protéines, minéraux et vitamines (Treche 1998). De ce fait, l'igname fait partie des plantes alimentaires majeures. D'après Collomb (1999 dans Guengant et Banoïn 2004), on peut classer les grands régimes alimentaires mondiaux en trois classes. La première est un régime mixte à base de viande, lait et blé, rencontré essentiellement dans les pays dits industrialisés (Europe, Etats-Unis, Australie). Le deuxième régime est à base de céréales et se divise en riz, maïs, blé et mil/sorgho (essentiellement les pays d'Asie, d'Amérique centrale et du sud, d'Afrique du nord/Moyen Orient, d'Afrique sahélienne respectivement). Le troisième régime est à base de plantes à multiplication végétative (igname, manioc, tarot et plantain) et se rencontre quasi exclusivement en Afrique tropicale (Figure 2).

L'Afrique, particulièrement l'Afrique de l'Ouest, représente plus de 95% de la production mondiale d'igname (près de 40 millions de tonnes, FAOSTAT 2005). En Afrique l'igname est la deuxième plante à racines et tubercules produite, derrière le manioc, et près de 70% de la production est assurée par le Nigeria. L'espèce principalement cultivée est *D. rotundata*. Les 5% de la production mondiale restants se répartissent entre l'Asie et l'Océanie, où l'espèce principalement cultivée est *D. alata*, et l'Amérique tropicale, où l'espèce cultivée est *D. trifida*.

Les climats tropicaux présentent une alternance de saisons sèches et de saisons des pluies. En saison des pluies, l'igname utilise les ressources emmagasinées dans le tubercule pour produire une liane volubile qui lui permet d'atteindre la canopée (Zinsou 1998). Durant la saison de végétation, un nouveau tubercule est produit. Certaines espèces, comme *D. bulbifera*, produisent aussi des petits tubercules aériens nommés bulbilles. A la fin de la saison des pluies, l'appareil aérien meurt et c'est sous forme de tubercules dormants que

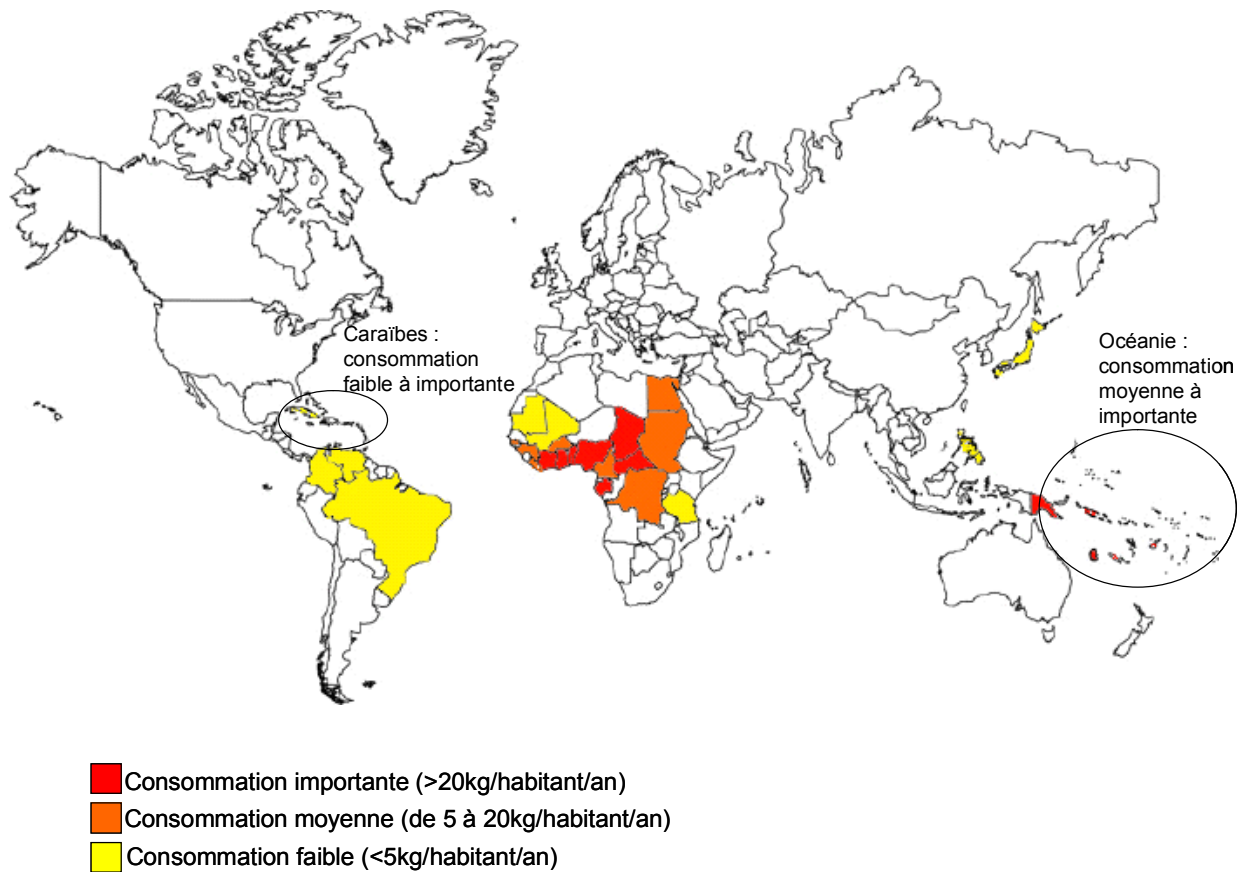


Figure 2. Répartition des pays consommateurs d'igname (d'après Bricas et Attaie 1998).

Les 15 pays à consommation importante d'igname représentent environ 205 millions d'habitants et les 16 pays à consommation moyenne environ 208 millions d'habitants (FAOSTAT 2005). Les plus gros consommateurs d'igname sont en Afrique, bien qu'on trouve aussi des consommations fortes dans certains pays des Caraïbes ou de l'Océanie.

l'igname passe la saison sèche. Le retour des pluies permet ensuite la germination des tubercules. La plupart des espèces, et notamment les espèces cultivées, sont annuelles, c'est-à-dire qu'un nouveau tubercule est formé chaque année.

Les différentes espèces d'igname sont obligatoirement allogames car dioïques. Quelques rares cas de monœcie ont été rapportés, mais ils ne concernent jamais tous les individus d'une espèce (Sadik et Okereke 1975a, Dumont 1977). La floraison a lieu durant la saison des pluies. La pollinisation est assurée par des insectes (Sadik 1977, Segnou et al. 1992). Les graines produites sont ailées et légères et sont dispersées par le vent. La floraison des espèces sauvages est abondante alors que chez les espèces cultivées elle est limitée et irrégulière. Les espèces cultivées sont multipliées uniquement par voie asexuée, en utilisant des fragments de tubercules.

Les différentes espèces d'igname ont été caractérisées par trois nombres chromosomiques, $x=9$, $x=10$ et $x=12$ (Miège 1954). A part quelques espèces tempérées diploïdes, toutes les espèces d'igname sont considérées comme polyploïdes. Les niveaux de ploïdie varient de $4x$ à $12x$ et on trouve des séries polyploïdes dans certaines espèces (par exemple, $4x$, $6x$, $8x$, $10x$ pour *D. bulbifera*).

A. L'igname en Afrique de l'Ouest

L'igname est consommée dans la plupart des pays de l'Afrique de l'Ouest mais ne constitue la base de l'alimentation que dans une région appelée "Yam zone" ou "Civilisation de l'igname" (Ayensu et Coursey 1972, Coursey 1976) (Figure 3). Cette dénomination s'oppose aux pays de la "Civilisation du riz" où le régime alimentaire repose sur la consommation de riz (Coursey 1976). Selon cet auteur, l'exploitation des ignames sauvages aurait commencé avec la maîtrise du feu et le développement d'outils permettant d'extraire les tubercules du sol. L'exploitation des formes sauvages se serait accompagnée de rites et de protections des plantes. La mise en culture de l'igname serait apparue vers 3000 ans avant JC, cependant l'absence de données archéologiques ne permet pas une datation précise (Coursey 1976).

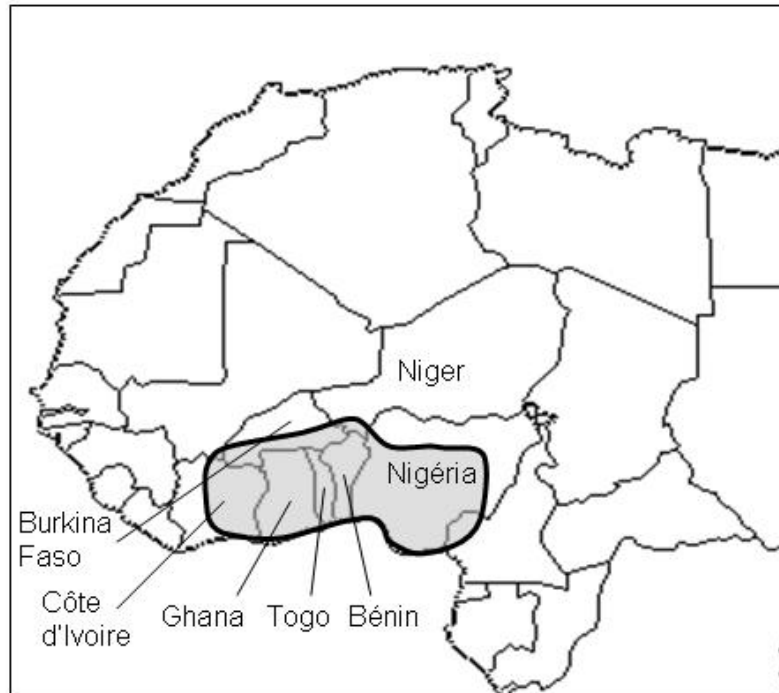


Figure 3. Aire de la "Yam zone" (d'après Coursey 1976).

Il s'agit d'une zone très limitée en Afrique, représentée en grisé, correspondant aux régions où l'igname est la base de l'alimentation. Dans les régions plus à l'est ou à l'ouest, la consommation d'igname est forte (Figure 2) mais l'igname ne représente pas la plante alimentaire de base.

1. Quelques aspects culturels sur l'igname en Afrique

L'igname est à la base de l'alimentation dans les zones rurales de la "Yam zone". Elle est essentiellement cultivée pour l'autoconsommation mais elle reste un met de choix pour les populations urbaines. Par rapport à des plantes amylacées comme le manioc, la banane plantain, le riz ou le maïs, l'igname est un produit relativement cher et moins disponible sur les marchés urbains. Cependant, l'attachement culturel des populations ouest-africaines à l'igname est important : l'igname est ancrée dans les habitudes alimentaires et constitue un marqueur d'identité de certaines populations (Bricas et Attaie 1998).

Les formes de consommation de l'igname ne sont pas très diverses. Le plat le plus apprécié est le *foutou*. Il s'agit de faire bouillir l'igname et de la piler pour obtenir une pâte élastique et consistante (Figure 4). La préparation du *foutou* est laborieuse et contraignante mais une bonne ménagère se doit de savoir piler l'igname. Toutes les variétés ne sont pas adaptées à cette forme de préparation, préparer le *foutou* à partir d'une variété peu adaptée est d'ailleurs un test utilisé dans le nord du Bénin pour savoir si une jeune fille est bonne à marier (Baco 2000). Dans les villes, l'utilisation de tubercules frais, nécessaires pour la préparation du *foutou*, est limitée par leurs coûts élevés (coût de stockage et de transport, difficulté de conservation). En conséquence, l'utilisation de cossettes d'igname (Figure 4) se développe. Les cossettes d'igname sont obtenues en faisant sécher des morceaux de tubercules précuits. Réduites ensuite en farine, les cossettes d'igname sont utilisées pour préparer l'*amala*, pâte élastique équivalente au *foutou* mais préparée à partir d'igname séchée. L'*amala* est plus facile à préparer que le *foutou* et surtout moins cher et se généralise dans les villes (Bricas et Attaie 1998). L'igname peut aussi être consommée simplement bouillie, en ragoût, frite ou grillée. Cependant, ces formes de consommation ne sont pas aussi appréciées que les pâtes d'igname, que ce soit en milieu rural ou urbain. Dans le nord du Bénin, les paysans préfèrent d'ailleurs jeûner plutôt que de manger l'une de ces trois formes d'igname au repas du soir (Baco 2000).

Les ignames cultivées et sauvages sont aussi utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour traiter des maux aussi divers que piqûres, brûlures, rhumatismes, impuissance, épilepsie (Ake Assi 1998).

Au-delà de la simple notion de plante alimentaire, la culture de l'igname possède une dimension culturelle et sociale très importante. Dans le nord du Bénin, les paysans n'hésitent pas à dire que « *sans champ d'igname, vous n'êtes pas un paysan ou tu deviens la risée du*



Figure 4. Modes de préparation de l'igname.

Fabrication du *foutou* à l'Université d'Abomey-Calavi (Cotonou). L'igname est bouillie puis pilée dans un mortier avec de l'eau chaude (a) pour obtenir une pâte consistante et élastique (b). (c) Séchage de petits tubercules d'ignames en vue de la fabrication de cossettes d'igname séchée. (Photos a et b : S. Tostain).

village » (Baco 2000). Le statut social des paysans dans le village dépend beaucoup de leurs productions d'igname. Un paysan dont les stocks d'igname viennent à s'épuiser sera rapidement considéré comme un paresseux et un affamé et on refusera le mariage avec sa famille. Au contraire, un paysan qui produit beaucoup de variétés et en grande quantité pourra se permettre de donner des tubercules, ce qui renforcera sa position sociale.

Même si les traditions et les croyances se perdent, la culture de l'igname reste encore associée à des rites et coutumes particuliers. Au Bénin, les paysans hésitent à partager leurs connaissances et leurs savoir-faire. Ils cultivent souvent l'igname dans des champs très éloignés des habitations pour éviter d'éventuels envoûtements qui limiteraient leurs rendements (Baco 2000). Au Cameroun (Seignobos 1992), les vols de tubercules sont des actes très graves qui nécessitent des sacrifices pour calmer les esprits des ancêtres du propriétaire. Auparavant, la consommation de l'igname nouvelle était strictement interdite tant que des offrandes rituelles n'avaient pas été faites aux ancêtres. Ces offrandes se faisaient au cours d'une cérémonie nommée "Fête de l'igname". En Côte d'Ivoire par exemple (Perrot 1998), le passage à la nouvelle année (selon le calendrier local) était marqué par une grande cérémonie de huit jours terminée par une offrande d'igname nouvelle aux ancêtres. C'est seulement après cette cérémonie que chacun était autorisé à consommer l'igname. Cependant, si dans certaines régions des cérémonies abrégées existent encore, la "Fête de l'igname" a perdu son caractère sacré et aujourd'hui plus personne ne l'attend pour consommer l'igname (Perrot 1998).

2. Les espèces cultivées et leur classification

Plusieurs espèces d'ignames sont cultivées en Afrique de l'Ouest (Tableau 1). La plus importante est l'espèce africaine *D. rotundata*. On trouve aussi d'autres espèces globalement peu représentées mais qui peuvent avoir une importance locale particulière : *D. dumetorum* est une espèce africaine surtout cultivée dans la partie occidentale du Cameroun et *D. alata*, une espèce asiatique cultivée essentiellement en Côte d'Ivoire. On y trouve aussi des espèces mineures telles que *D. cayenensis* (origine africaine), *D. bulbifera* (origine africaine et/ou asiatique) et *D. esculenta* (origine asiatique). Certaines de ces espèces existent à l'état sauvage (*D. bulbifera*, *D. dumetorum*), les autres espèces n'existent qu'à l'état cultivé.

Les espèces nommées ici *D. cayenensis* et *D. rotundata* posent un problème taxonomique depuis de très nombreuses années. Deux espèces ont été décrites à l'origine, *D.*

Espèce	Statut	Origine	Nombre chromosomique de base	Niveau de ploïdie	Référence
<i>D. rotundata</i>	Cultivé	Afrique	x = 10	4x	Zoundjiekpon et al. 1990 Hamon et al. 1992a Dansie et al. 2001
<i>D. cayenensis</i>	Cultivé	Afrique	x = 10	4x, 6x, 8x	Zoundjiekpon et al. 1990 Hamon et al. 1992a Dansie et al. 2001
<i>D. bulbifera</i>	Cultivé et sauvage	Afrique et/ou Asie	x = 9 et 10	4x, 6x	Miège 1954 Hamon et al. 1992a
<i>D. dumetorum</i>	Cultivé et sauvage	Afrique	x = 9	4x, 5x, 6x	Miège 1954
<i>D. alata</i>	Cultivé	Asie	x = 10	4x, 6x, 8x	Miège 1954 Gamiette et al. 1999
<i>D. esculenta</i>	Cultivé	Asie	x = 10	4x, 6x	Miège 1954 Hamon et al. 1992a

Tableau 1. Caractéristiques des principales espèces d'igname cultivées en Afrique.

Les ignames cultivées en Afrique de l'Ouest ont une origine africaine ou asiatique et certaines se rencontrent aussi à l'état sauvage. Pour chaque espèce, le nombre chromosomique de base, le niveau de ploïdie, ainsi que les principales références où sont mentionnés les niveaux de ploïdie de ces espèces, ont été notés. Nous verrons dans ce travail que ces caractères cytogénétiques doivent être révisés.

cayenensis en 1789 par Lamarck et *D. rotundata* par Poiret en 1813. Les descriptions suivantes ont souvent semé la confusion. Burkill (1921), considère deux espèces, *D. cayenensis*, à chair jaune, et *D. rotundata*, à chair blanche. Cependant, certains auteurs (dont Burkill en 1939) considèrent une seule espèce, *D. cayenensis* (Chevalier 1936, Miège 1952), *D. rotundata* n'étant qu'une sous-espèce ou une variété. Le même Burkill (1960) considère à nouveau deux espèces, tout comme Ayensu (1972) et Coursey (1976). En 1977, Dumont estime qu'il n'est pas nécessaire de séparer les deux espèces car il n'y a pas de barrières génétiques entre elles. Selon cet auteur, ces deux espèces sont morphologiquement différentes, bien que très polymorphes, mais le doute demeure car de nombreux phénotypes intermédiaires restent difficiles à classer (Hamon 1987).

Devant ce problème de définition, la dénomination *D. cayenensis-D. rotundata* est proposée lors d'un séminaire au Cameroun en 1978 (Miège et Lyonga 1982). Elle est adoptée par plusieurs auteurs (ex Hamon et al. 1997, Dansi et al. 2000a, Dumont et Vernier 2000). Cependant, certains auteurs conservent la terminologie *D. rotundata* et *D. cayenensis* (ex. Terauchi et al. 1992, Vernier et al. 2003).

Le problème que pose la définition de ces deux espèces est lié à nos lacunes sur l'histoire de ces espèces ainsi qu'à leur grande diversité morphologique.

Plusieurs auteurs ont eu recours aux marqueurs moléculaires pour essayer de lever cette ambiguïté en analysant l'origine génétique de *D. cayenensis* et *D. rotundata*.

Hamon (1987) se base sur des isozymes et des caractères morphologiques pour définir deux classes dans le complexe *D. cayenensis-D. rotundata*. La première classe contient des variétés à 40 chromosomes qui proviendraient de *D. abyssinica* et *D. praehensilis*. La deuxième classe correspond à des variétés à 60 et 80 chromosomes qui proviendraient des espèces *D. burkiana* et *D. mangenotiana* ou d'hybridations entre ces espèces et *D. abyssinica* et *D. praehensilis* (Figure 5). Cependant, ces deux classes telles qu'elles sont définies par Hamon (1987) et Zoundjihèkpon (1993) correspondent l'une à *D. cayenensis* (60 et 80 chromosomes, chair jaune), l'autre à *D. rotundata* (40 chromosomes, chair blanche).

Terauchi et al. (1992) montrent par marqueurs chloroplastiques et ribosomiques que les profils obtenus chez *D. rotundata* sont identiques à ceux de *D. abyssinica*, *D. praehensilis* et *D. liebrechtsiana*, ce qui indiquerait que *D. rotundata* proviendrait d'une de ces espèces ou d'hybridations entre ces espèces. Par contre une partie du génome de *D. cayenensis* est identique à *D. abyssinica*, *D. praehensilis* et *D. liebrechtsiana*, et l'autre à *D. burkiana*, *D. minutiflora*, *D. smilacifolia* et *D. togoensis* (Figure 5). En d'autres termes, les deux espèces *D.*

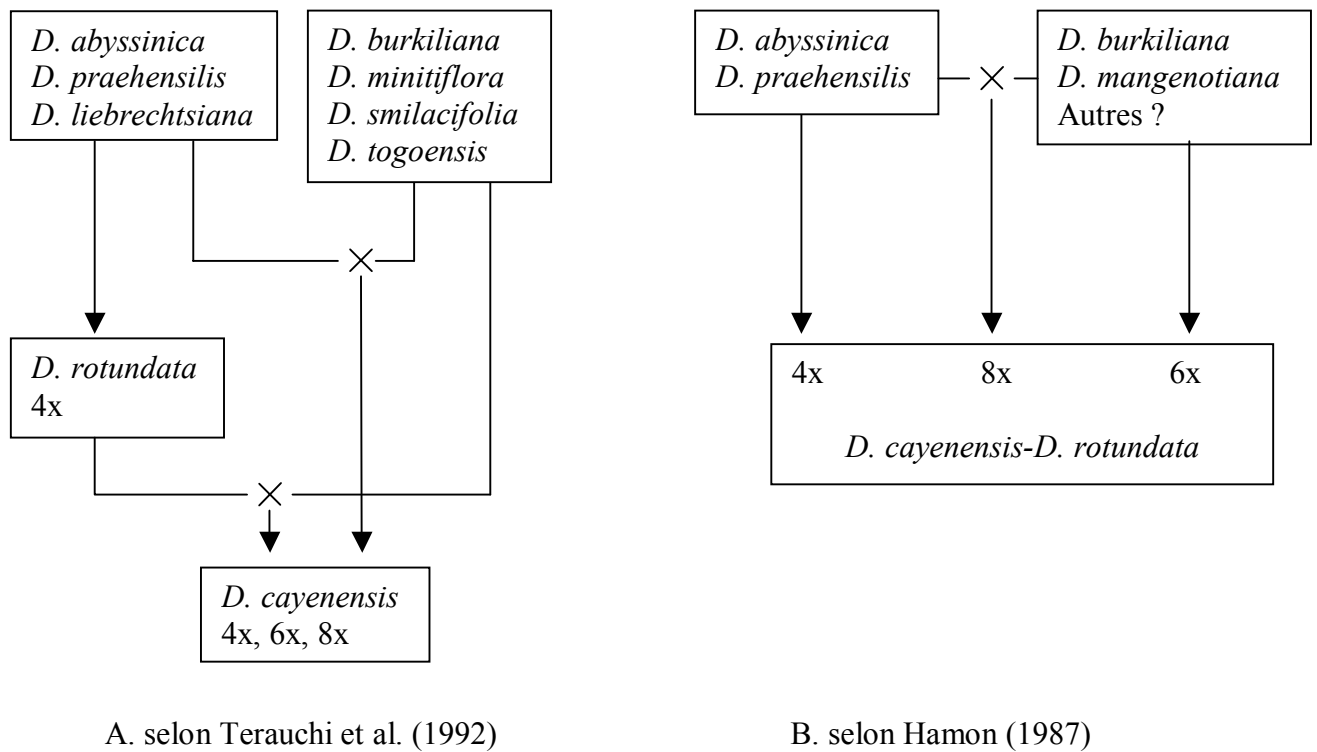


Figure 5. L'origine des espèces cultivées *D. rotundata* et *D. cayenensis* selon Terauchi et al. (1992) et Hamon (1987).

Les données chloroplastique et ribosomique obtenues par Terauchi et al. (1992) (A) indiquent que les deux espèces *D. rotundata* et *D. cayenensis* proviendraient de la domestication d'espèces sauvages différentes. Selon Hamon (1987) (B) il ne convient pas de différencier ces deux espèces. Des données obtenues par isozymes lui permettent de supposer que le complexe *D. cayenensis-D. rotundata* a une origine pluri-spécifique.

rotundata et *D. cayenensis* ne proviendraient pas des mêmes espèces sauvages. Cette hypothèse semble se confirmer par les résultats de Tostain et al. (en préparation). Ces auteurs ont en effet analysé la diversité génétique des variétés cultivées au Bénin à l'aide de microsatellites nucléaires. Parmi les échantillons, ceux correspondant à l'espèce *D. cayenensis* apparaissent très différents génétiquement de ceux appartenant à l'espèce *D. rotundata*.

Pour résumer, les caractéristiques de l'espèce *D. rotundata* sont homogènes. Cette espèce regroupe des variétés à chair blanche et à 40 chromosomes qui proviendraient de la domestication de *D. abyssinica* et/ou *D. praehensilis*. Les caractéristiques de l'espèce *D. cayenensis* sont hétérogènes. On trouve en effet des variétés à chair jaune et à 60 et à 80 chromosomes. Selon les modèles proposés (Terauchi et al. 1992, Hahn 1995, Hamon et al. 1997), ces variétés proviendraient de la domestication des espèces *D. burkiliana*, *D. minutiflora*, *D. smilacifolia*, *D. mangenotiana* et/ou *D. togoensis* ou de l'hybridation de ces espèces avec *D. abyssinica* et *D. praehensilis*.

Il nous semble donc que les espèces sont génétiquement différentes car elles n'ont pas le même nombre de chromosomes et n'auraient pas la même histoire évolutive, bien que morphologiquement il soit parfois difficile de les distinguer. Dans ce document, nous avons donc choisi de considérer les deux espèces *D. rotundata* et *D. cayenensis*¹.

3. *Dioscorea rotundata*, principale espèce cultivée

D. rotundata, l'espèce majoritairement cultivée en Afrique, est une espèce à 40 chromosomes. La très grande diversité morphologique rencontrée chez cette espèce (Hamon et al. 1986) rend difficile une description sommaire. La Figure 6 donne une idée de la variabilité qui existe aussi bien au niveau aérien que souterrain. Cette grande diversité morphologique est associée à une profusion de dénominations vernaculaires. Au Bénin, Baco (2003) a répertorié 112 noms différents dans seulement 4 villages et Dansi et al. (1999) dénombrent plus de 300 noms différents pour seulement 10 ethnies. Bien sûr, l'existence de synonymie augmente sans doute artificiellement la diversité perçue.

¹L'article accepté dans *Genetic Resources and Crop Evolution* (Chapitre II) fait référence au complexe *D. cayenensis-D. rotundata*. Cet article a en effet été rédigé plus tôt, au début de cette thèse, avant que nous adoptions la notation de deux espèces séparées. Néanmoins, l'échantillonnage ne contenant que des variétés appartenant à *D. rotundata*, le lecteur pourra considérer qu'on parle de *D. rotundata*.



Figure 6. Illustration de la diversité rencontrée chez l'espèce cultivée *D. rotundata*. Les photos a à d représentent les tubercules et e à i l'appareil aérien. (Photos d à i : S. Tostain).

Les variétés d'ignames sont soit mâles soit femelles (Figure 7), mais on peut observer quelques variétés mélangeant des plantes mâles et des plantes femelles. Différentes observations indiquent un sex-ratio biaisé en faveur des mâles, de l'ordre de 3:1 (Dumont 1977, Zoundjihèkpon et Dansi 1998). On trouve aussi dans certaines variétés de rares pieds monoïques, c'est-à-dire des plantes portant des fleurs mâles et des fleurs femelles séparées (Sadik et Okereke 1975a, Dumont 1977). Les données concernant la floraison et la fructification sont généralement limitées à très peu de variétés et sont parfois contradictoires. La floraison et la fructification sont dépendantes de la variété analysée mais aussi de certains facteurs environnementaux et physiologiques (sol, luminosité, pluviométrie, date de plantation, fragment du tubercule utilisé pour obtenir la plante, nombre d'années de culture successive, obtention d'une plante directement à partir d'une graine, etc.) (Sadik et Okereke 1975a, Dumont 1977, Zoundjihèkpon 1993, Zoundjihèkpon et Dansi 1998). Dans tous les cas, les floraisons et les fructifications obtenues en stations expérimentales sont peu abondantes et irrégulières (Sadik et Okereke 1975b, Segnou et al. 1992, Zoundjihèkpon et Dansi 1998). Différents auteurs supposent que le peu de fructification observé est dû à un manque de synchronisation des floraisons mâles et femelles (Ayensu et Coursey 1972, Segnou et al. 1992). Cependant, d'autres études suggèrent que cette absence de synchronisation est également dépendante des variétés (Zoundjihèkpon et al. 1997).

Toutes les variétés peuvent être classées en deux grands groupes : les ignames précoces et les ignames tardives. Les ignames précoces achèvent leur tubérisation rapidement, en 8 mois environ, et produisent généralement un ou deux gros tubercules. Les ignames tardives produisent généralement de nombreux petits tubercules à la fin du cycle de végétation (environ 12 mois). Tostain et al. (en préparation) ont montré que la diversité génétique des ignames du Bénin se structure selon la précocité des variétés. Les variétés tardives, moins nombreuses que les variétés précoces, sont aussi moins diversifiées et se différencient génétiquement des variétés précoces. Dumont (1977) a aussi rapporté la plus faible diversité morphologique des variétés tardives. De plus, Dumont (1977) et Tostain et al. (en préparation) ont noté que les variétés tardives ne comportent que des individus mâles, tandis que les variétés précoces comportent des individus mâles, femelles, et parfois monoïques.



Figure 7. Fleurs et fruits observés chez *D. rotundata*. Floraison mâle (a), femelle (b) et fructification (c) observée chez l'igname cultivée *D. rotundata*. (Photos a à c : S. Tostain).

4. Le système de culture

Au Bénin (région nord, centre et sud, respectivement Baco 2000, Okry 2000 et Houemassou Bossa 2001), l'igname est toujours la première plante cultivée dans un champ. Les champs sont installés après défrichage de parcelles de savanes ou de parcelles en jachère depuis longtemps (10 à 15 ans). L'igname est une plante exigeante qui demande des sols riches, légers et bien drainés. Les paysans privilégient donc des sols riches, caractérisés par la présence d'une végétation dense.

La parcelle est tout d'abord défrichée puis labourée. Les arbres présents sont tués en les faisant brûler à la base (écobuage) mais ne sont pas enlevés du champ : ils serviront de tuteurs naturels. Les paysans mettent ensuite en place des buttes de terre (Figure 8). La plantation de l'igname dans des buttes permet aux tubercules de se développer dans une terre meuble et riche, sans obstacle à leur croissance. Elle permet aussi une récolte moins laborieuse car le paysan n'a pas à creuser le sol mais simplement à éventrer les buttes. La taille des buttes dépend des régions. Les grandes buttes sont coûteuses en énergie mais limitent les problèmes d'inondations en saison des pluies. Les paysans confectionnent en moyenne 6000 à 8000 buttes par hectare, les champs variant de moins de 0,25ha en moyenne au sud du Bénin (région peu productrice) à près de 1,25ha en moyenne au nord du Bénin (région très productrice en igname).

Aux mois de janvier/février, les tubercules qui servent de semence sont placés dans les buttes. Différents types de semences sont utilisés. Pour les ignames donnant beaucoup de petits tubercules, un tubercule entier est planté par butte. Dans le cas des variétés donnant peu de gros tubercules, le paysan est obligé de couper les tubercules en morceaux et de planter chaque morceau dans une butte différente. Afin de pouvoir planter tout son champ, le paysan doit utiliser en moyenne de 20 à 30% de sa récolte précédente. Les méthodes de plantation diffèrent selon les régions, mais dans tous les cas, un coussinet de paille est placé sur le sommet des buttes pour éviter que le soleil dessèche les semences (Figure 8). Le champ est habituellement désherbé plusieurs fois au cours de l'année, le rendement en tubercules étant, d'après les paysans, affecté par la présence d'adventices. Selon les régions, les ignames sont ou ne sont pas tuteurées. Le début de la saison des pluies entraîne la germination des tubercules, le développement de l'appareil aérien et la formation de nouveaux tubercules.

La récolte des tubercules dépend du cycle des variétés. Les ignames précoces peuvent être récoltées de juin à octobre. Les premiers tubercules récoltés sont utilisés exclusivement



Figure 8. Champs d'ignames cultivées.

Buttes de terre dans un champ d'igname prêt à être mis en culture, en décembre au nord du Bénin (a). Un morceau de tubercule sera placé dans chaque butte et un coussinet de paille sera posé sur chaque butte pour protéger le tubercule du soleil (b). Champ d'igname en août (c) pendant la saison de végétation. La culture se fait sans tuteur ce qui donne l'impression que les lianes sont rampantes. Au dernier plan, on distingue la savane arborée qui borde les champs. Dans cette savane, on trouve des ignames sauvages *D. abyssinica*. (Photos a et b : S. Tostain).

pour la consommation. Les paysans veillent à laisser la partie supérieure du tubercule et l'appareil végétatif dans la butte. De cette façon, la plante est en mesure de produire un nouveau tubercule. Les seconds tubercules, plus petits, sont récoltés à la mort de la plante, en novembre/décembre et servent de semences pour l'année suivante. Cette pratique est nommée double récolte. Elle permet un approvisionnement précoce et régulier en tubercules mais elle est délicate à réaliser. Il faut en effet avoir une bonne connaissance de la période propice à la première récolte sous peine de tuer la plante. Les ignames tardives sont récoltées uniquement en novembre/décembre et servent soit comme semences soit pour la consommation. Certaines variétés, dites intermédiaires, peuvent être indifféremment récoltées une ou deux fois. Si une variété précoce peut être récoltée une seule fois, une variété tardive ne peut pas être récoltée deux fois.

Suite à cette première saison de culture, le champ est cultivé avec d'autres plantes, généralement du coton ou du maïs. Ce type de culture est particulièrement défavorable à la survie des ignames cultivées qui pourraient repousser dans le champ si des fragments de tubercules ont été laissés dans les buttes. Dans le nord du Bénin, certains paysans nous ont d'ailleurs dit arracher les ignames qui poussent spontanément la deuxième année car elles sont de mauvaise qualité.

5. Les espèces sauvages

On trouve de très nombreuses espèces sauvages d'igname en Afrique de l'Ouest, parmi lesquelles *D. abyssinica*, *D. praehensilis*, *D. bulbifera*, *D. togoensis*, *D. dumetorum* et *D. burkiliiana* (Hamon et al. 1995). D'après les études génétiques réalisées par Hamon (1987) et Terauchi et al. (1992), c'est à partir de *D. abyssinica* et *D. praehensilis* que *D. rotundata* a été domestiquée. C'est donc à ces deux espèces que nous allons nous intéresser ici.

D. abyssinica est une espèce à 40 chromosomes qui se rencontre dans des savanes arborées d'Afrique de l'Ouest (Figure 9). C'est une espèce annuelle qui forme un à plusieurs tubercules digités (Figure 10). La floraison et la fructification sont abondantes.

D. praehensilis est une espèce à 40 chromosomes qui se rencontre dans des forêts denses et humides d'Afrique de l'Ouest (Figure 9). C'est une espèce annuelle caractérisée par la présence d'épines sur la tige et sur les racines qui forment une couronne au sommet du tubercule (Figure 11). La floraison et la fructification sont abondantes.

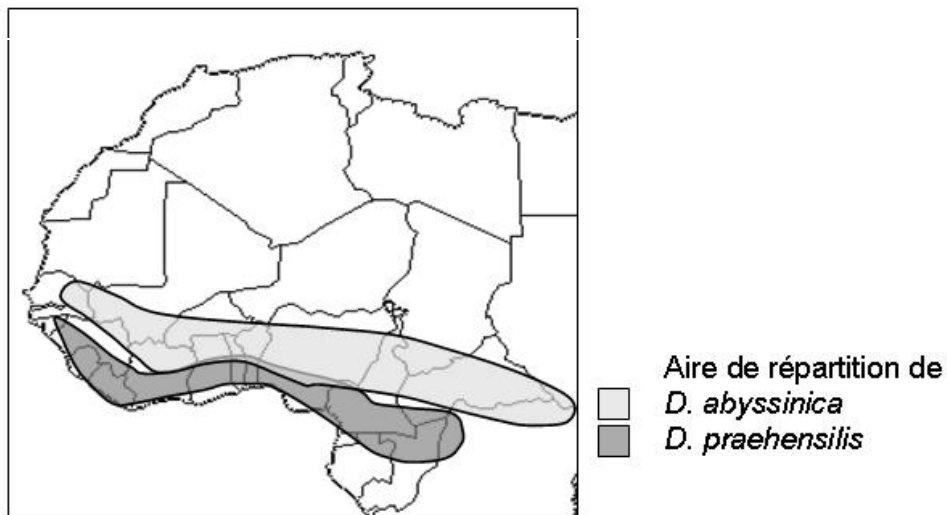


Figure 9. Répartition des deux espèces sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis* en Afrique de l'Ouest (d'après Tostain et Daïnou 1998). On note l'existence d'une zone de sympatrie entre les deux espèces.

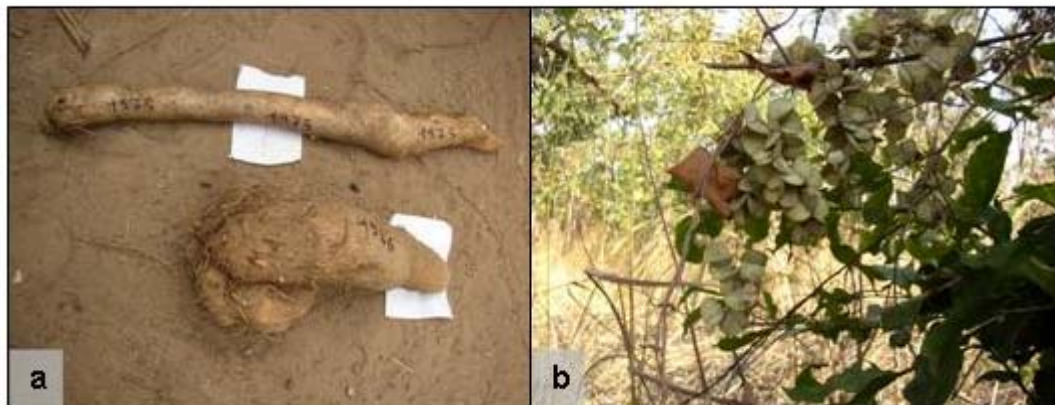


Figure 10. *D. abyssinica*
 Morphologie de deux types de tubercules de *D. abyssinica* (a) et fructification abondante observée en décembre pendant la saison sèche (b).



Figure 11. *D. praehensilis*
 Couronne d'épines protégeant un tubercule de *D. praehensilis* encore en terre (a) et ce tubercule une fois sorti de terre (b).

Ces deux espèces sont différentes morphologiquement et écologiquement. Des marqueurs peu polymorphes les différencient mal (Hamon 1987, Terauchi et al. 1992) alors que des marqueurs très polymorphes (AFLP) permettent de les distinguer génétiquement (Tostain et al. 2002). En plus d'une différence interspécifique, Tostain et al. (2002) ont mis en évidence des différences intra-spécifiques. Des échantillons de *D. abyssinica* ont été prélevés à l'ouest et au centre de l'aire de répartition de l'espèce (respectivement Guinée et Togo/Bénin), et les échantillons de *D. praehensilis* à l'ouest (Guinée), au centre (Togo/Bénin) et à l'est (Cameroun) de l'aire de répartition de l'espèce (Figure 9). Pour chaque espèce, les résultats indiquent une différence génétique forte entre les échantillons est, centre et ouest, traduisant une structuration géographique.

Les champs d'igname cultivée sont la plupart du temps à proximité de zones où vivent des ignames sauvages. Au Bénin, on ne trouve plus de *D. praehensilis* que dans des forêts sacrées ou classées qu'il est interdit de détruire. Cependant, la pression foncière est forte et les champs d'igname se retrouvent souvent à proximité des forêts. Les savanes où croît *D. abyssinica* n'ont pas ce caractère sacré et des parcelles sont défrichées au cœur des savanes pour y installer les champs. Les champs sont donc bordés de savanes et de *D. abyssinica*. La proximité spatiale et la nature dioïque des espèces sauvages et cultivées sont à même de favoriser la formation d'hybrides interspécifiques. Lors d'une expérimentation, Zoundjihèkpon et al. (1994) ont mis en évidence un cas d'hybridation entre l'espèce cultivée *D. rotundata* et l'espèce sauvage *D. praehensilis*. Cependant, on ignore s'il se forme spontanément et couramment des hybrides entre les espèces sauvages et cultivée en conditions naturelles.

6. Niveau de ploïdie des ignames ouest africaines

De nombreuses études de comptages chromosomiques ou de cytométrie en flux ont été réalisées pour déterminer le niveau de ploïdie des ignames africaines (ex Miège 1952, Zoundjihèkpon et al. 1990, Hamon et al. 1992a, Gamiette et al. 1999, Dansi et al. 2000c et 2001).

Ces études ne s'accordent pas toujours sur le nombre de chromosomes de certaines espèces, mais de façon générale, on trouve en Afrique des ignames dont le nombre chromosomique de base est $x=10$ (ex. 40, 60, 80 chromosomes) et des ignames dont le

nombre chromosomique de base est $x=9$ (ex. 36, 54, 72 chromosomes). Les ignames africaines sont toutes considérées polyploïdes.

La détermination du nombre chromosomique de base des ignames est basée sur l'existence d'espèces d'ignames européennes et asiatiques à 20 chromosomes, par exemple *D. tokoro*, *D. gracilliana* et *D. nipponica* en Asie et *D. balcanica* et *D. caucasica* en Europe (Miège 1952). Les nombres chromosomiques de base de 9 et 10 sont très largement acceptés et toutes les études qui cherchent à déterminer le niveau de ploïdie d'une espèce se basent sur ces chiffres (ex. Miège 1952, Zoundjihèkpon et al. 1990, Hamon et al. 1992a, Gamiette et al. 1999, Dansi et al. 2000c et 2001).

Pourtant, l'analyse par isozymes d'une descendance d'igname cultivée *D. rotundata* à 40 chromosomes montre une ségrégation de type diploïde (Daïnou et al. 2002). Ces auteurs suggèrent que le nombre chromosomique des espèces considérées à $x=10$ pourrait être en réalité $x=20$. De plus, des descendances contrôlées analysées par isozymes (Zoundjihèkpon et al. 1994) et AFLP (Mignouna et al. 2002) indiquent aussi des ségrégations de type diploïde. Ces deux dernières équipes n'ont cependant pas utilisé leurs résultats pour discuter du niveau de ploïdie de l'igname.

Des études plus approfondies sont nécessaires pour clarifier ce problème du niveau de ploïdie des ignames africaines. La connaissance du niveau de ploïdie des ignames a des conséquences directes pour le travail des sélectionneurs, et, en ce qui nous concerne, sur les analyses génétiques que nous pourrions réaliser. La première partie de notre travail consistera donc à étudier le niveau de ploïdie des ignames cultivée (*D. rotundata*) et sauvages (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*).

B. Gestion paysanne, reproduction sexuée et diversité de l'igname cultivée *D. rotundata*

On a longtemps considéré que, l'igname étant multipliée asexuellement, les variétés devaient toutes être monoclonales, ou dans le pire des cas constituées de clones extrêmement proches génétiquement et reliés par des événements de mutations. Une telle idée ne prenait pas en compte deux points importants : (1) de par leur gestion variétale, les paysans ne sont

pas forcément en mesure de conserver la monoclonalité des variétés et (2) si des pratiques paysannes particulières sont en mesure d'introduire des produits de reproduction sexuée, les variétés devraient être polyclonales et constituées d'individus très différents génétiquement.

1. Concept de variété chez l'igname

Avant de parler de diversité des variétés d'igname, il faut définir le terme variété. En effet, le concept de variété varie selon le point de vue considéré. Pour un améliorateur, une variété est "une population artificielle à base génétique étroite, de caractéristiques agronomiques assez bien définies et reproductible de façon plus ou moins stricte selon un mode de production déterminé" (Gallais 1989).

En agrosystème traditionnel, les paysans définissent leurs variétés selon des critères qui leurs sont propres. Le terme variété correspond alors au terme *landrace* défini par Harlan (1975) : "Landrace populations are often highly variable in appearance, but they are each identifiable and usually have local names. A landrace has particular properties or characteristics. Some are considered early-maturing and some late. Each has a reputation for adaptation to particular soil type [...]. They may also be classified according to expected usage [...]. Genetic variation within a landrace may be considerable."

Dans cette thèse, nous avons considéré une variété comme l'ensemble des tubercules auxquels les paysans attribuent le même nom et qu'ils gèrent comme une même unité. Nous nous plaçons donc du point de vue du paysan, ou du gestionnaire de ressources génétiques confronté aux dires paysans.

Devant la grande diversité morphologique des variétés d'ignames (ex. Hamon et al. 1986, Dansi et al. 1999, 2000a et 2000b) et la profusion de noms vernaculaires potentiellement synonymes, de nombreux auteurs ont tenté de définir des groupes variétaux, c'est-à-dire des groupes comprenant plusieurs variétés, dont la diversité morphologique intra-groupe est toujours inférieure à la diversité morphologique intergroupe (ex. Hamon et al. 1986, Hamon 1987, Dansi et al. 1999). On retrouve le même effort de simplification en Océanie (Malapa 2005). La plupart des groupes variétaux sont hétérogènes morphologiquement et génétiquement. Ces groupes variétaux ont l'avantage de faciliter l'identification sur le terrain par les scientifiques et d'éviter les problèmes de synonymie. Cependant, ces groupes renferment des variétés que les paysans distinguent clairement. Il faut

tout de même noter que, comme aucune étude n'a été réalisée à ce sujet, on ignore si la classification paysanne reconnaît des groupes de variétés (en dehors des groupes 'précoce' et 'tardif') et si ces groupes correspondent ou non aux groupes variétaux définis par les chercheurs.

La diversité génétique n'a pas été étudiée au niveau variétal tel que nous l'avons défini ici. Seules des études au niveau des groupes variétaux ont été réalisées (ex. Hamon et al. 1986, Hamon 1987, Dansi et al. 1999). Or, il est important de comprendre comment se structure la diversité génétique des ignames cultivées au niveau variétal. La variété est en effet l'élément de base de la gestion paysanne : chaque variété est clairement identifiée par les paysans et c'est la variété qui fait l'objet d'achats ou d'échanges.

En Afrique de l'Ouest, les très nombreuses ethnies cultivant l'igname ont chacune leur langue et sont donc susceptibles de nommer différemment une même variété. Baco (2003) a pu, à partir d'entretiens de groupe, mettre en évidence des synonymies entre les noms de variétés données par 4 ethnies du nord Bénin. Par exemple la variété nommée Morokorou par l'ethnie Bariba est nommée Moroko chez les Gando, Samassi-hê chez les Lokpa et Kokouma chez les Nagot. Ces problèmes de synonymie ne sont pas spécifiques à l'Afrique. Au Vanuatu (Océanie), Malapa (2005) note que chaque ethnie possède sa propre nomenclature. Seules les variétés étrangères sont nommées par un nom commun à toutes les ethnies (le nom d'introduction). L'inverse peut aussi être vrai et des ethnies différentes peuvent nommer de la même façon des variétés différentes (Jarvis et al. 2000). Il devient donc délicat d'analyser la diversité génétique des ignames cultivées car selon l'échelle à laquelle on travaille (paysan, ethnie, village, région,...), on risque d'obtenir des images très différentes et des conclusions contradictoires. Il est indispensable de définir très clairement l'échelle à laquelle travailler avant de commencer une étude de la structuration de la diversité des ignames cultivées, tout en ayant conscience que les résultats obtenus à cette échelle ne seront peut-être pas généralisables à une autre échelle.

2. Gestion variétale et structuration génétique

Les paysans cultivent en général plusieurs variétés dans un même champ. Dans le nord du Bénin, Baco (2003) recense de 3 à 23 variétés par paysan avec une moyenne de 9 variétés par paysans. Posséder de nombreuses variétés assure un certain prestige social, mais cela permet aussi de mieux exploiter l'hétérogénéité des champs (Baco 2000) : des variétés telles que Kpouna ou Soagona nécessitent des terres riches tandis que des variétés comme

Bonniwouré ou Tabané se contentent de sols moins fertiles. De plus, chaque variété est plus ou moins réservée à un usage particulier, ce qui favorise la culture pluri-variétale. Sounou dourou, par exemple, est utilisée dans les cérémonies nuptiales, Kpanhouré pour les offrandes aux ancêtres. Moroko est appréciée sous forme de *foutou* tandis que Kokoro est surtout utilisée pour la fabrication de cossettes d'igname séchée (Baco 2000).

L'identification des variétés par les paysans se fait sur des critères morphologiques, phénologiques (durée du cycle) et organoleptiques (Baco 2000), à la fois sur l'appareil aérien (ex. morphologie des feuilles) et sur le tubercule (ex. forme, chair, goût). Pourtant l'identification d'un si grand nombre de variétés n'est pas toujours aisée. Pour éviter les mélanges, les tubercules ne sont pas disposés au hasard dans le champ. Les paysans essaient de garantir l'homogénéité des variétés en semant une même variété dans des buttes adjacentes. Le début et la fin d'une série de buttes contenant une même variété sont souvent indiqués par une plante particulière (ex. un pied de manioc ou une variété très différentes morphologiquement comme une variété de *D. alata*). Après la récolte, les tubercules des différentes variétés sont conservés en tas distincts (Baco 2000, Okry 2000). Cependant, les paysans ne sont pas à l'abri des mélanges. Lorsqu'ils ne peuvent pas s'occuper eux-mêmes de la récolte ou de la plantation, c'est-à-dire lorsque des jeunes ou des salariés connaissant mal les variétés y participent, les risques de mélanges augmentent.

L'igname est au cœur d'un réseau important facilitant la circulation des tubercules entre paysans. En général, le paysan cherche à acquérir une variété qu'il ne possède pas et recherche des tubercules chez un ou plusieurs paysans différents. Il peut aussi souhaiter accroître son nombre de semences. Baco et al. (2004) ont analysé la circulation des tubercules d'igname dans plusieurs villages du nord du Bénin et notamment dans le village de Gorobani. Les variétés d'igname circulent entre les paysans principalement par le biais de l'héritage et des dons de tubercules (79% des cas). L'échange et l'achat sont peu pratiqués. Les flux de tubercules se font essentiellement entre des paysans d'un même village, rarement entre des paysans de villages différents et quasiment pas entre des paysans de régions différentes (>200 km). Le don de tubercules a un aspect social important : il permet de tisser des liens. La majorité des dons se fait dans le cadre familial (frères, cousins, oncles, belle famille, 55%) ou amical (31%). On s'attend donc à ce que cette structuration des flux de tubercules conduise à une structuration géographique de la diversité génétique des ignames cultivées.

La monoclonalité des variétés d'ignames n'a été remise en cause que récemment. L'existence de risques de confusions et de mélanges de tubercules différents sous un même nom, ainsi que l'existence de flux de tubercules entre les paysans, suggèrent que les variétés pourraient être polyclonales. De plus, si les paysans sont en mesure d'utiliser la reproduction sexuée des ignames, alors la diversité attendue dans les variétés est bien plus importante que si seule la mutation est en jeu. Une partie du travail de thèse a donc consisté à analyser la diversité génétique des variétés d'igname afin de déterminer leur mono- ou polyclonalité et la nature de la diversité observée (mutation, reproduction sexuée).

3. Reproduction sexuée et ennoblissement : des sources potentielles de diversité

En culture traditionnelle, les paysans ne récoltent et ne sèment jamais les graines d'igname. Seule la multiplication végétative est utilisée dans la culture de l'igname. Pourtant la pratique nommée ennoblissement telle qu'elle a été décrite est susceptible de permettre l'utilisation indirecte de la reproduction sexuée des ignames sauvages. Si elle se vérifie, cette pratique aurait deux conséquences : elle augmenterait la diversité intra-variétale en introduisant dans les variétés des individus très différents génétiquement et elle augmenterait globalement la diversité du pool d'igname cultivée.

a. La pratique de l'ennoblissement

En Afrique, l'igname sauvage est souvent exploitée par les populations locales. Plusieurs formes d'exploitations ont été décrites :

- La *cueillette* consiste simplement à prélever des ignames sauvages pour les consommer. Cette pratique est plus ou moins courante selon son caractère déshonorant ou non dans les différentes ethnies mais semble généralisée en Afrique de l'Ouest. Au centre et au nord du Bénin (Baco 2000, Okry 2000), la consommation de *D. abyssinica* est fréquente bien que mal vue. Considéré comme de la nourriture pour animaux, on dit souvent qu'il faut être pauvre ou fainéant pour manger les ignames sauvages. Au contraire, au Ghana, la consommation de *D. abyssinica* semble naturelle et n'a pas de caractère déshonorant (Okry 2000). De la même façon, au Cameroun, la cueillette de *D. burkiliiana* est couramment pratiquée aussi bien par les hommes que par les femmes (Dounias 1996).

- La *paraculture* (Dounias 1996) consiste à exploiter des ignames sauvages. Elle a été décrite chez les Pygmées Baka au Cameroun et concerne les espèces sauvages *D. praehensilis*, *D. semperflorens* et *D. mangenotiana*. Dans ce cas, les paysans récoltent une partie du tubercule en veillant à replanter la tête du tubercule afin que la plante puisse survivre et produire de nouveaux tubercules. Ces ignames sont entretenues, protégées et font l'objet d'une véritable appropriation, mais elles ne sont pas cultivées au sens strict du terme. Des pratiques similaires ont été rapportées sur d'autres espèces sauvages et chez d'autres peuples : les Chenchus (Inde), les Aborigènes (Australie, *D. transversa*), les insulaires Andaman (Philippines, *D. glabra*), et les Kubu (Sumatra, *D. hispida* et *D. piscatorum*) (cité dans Dounias 1996).

- La *protoculture* (Chevalier 1936 cité par Dounias 1996 et Seignobos 1998) consiste à planter des ignames sauvages près des habitations et à les exploiter. Cette pratique a été observée pour l'espèce *D. dumetorum* chez les Bondjo d'Oubangui Chari (République Centrafricaine). Les ignames régulièrement exploitées auraient perdu leur toxicité, sans pour autant se différencier morphologiquement des formes sauvages. Une pratique similaire concernant *D. abyssinica* a été décrite au nord Cameroun (Seignobos 1998).

- L'*ennoblissement*² consiste à replanter des ignames sauvages dans les champs et à pratiquer différents stress pour que la plante s'adapte aux contraintes de l'agriculture. Cette pratique est similaire à la protoculture mais il y a cette fois une volonté des paysans de modifier la morphologie de la plante.

Différentes études ont été réalisées au Bénin et au Nigeria pour comprendre comment se pratique l'ennoblissement (Dumont 1998b, Baco 2000, Dumont et Vernier 2000, Okry 2000, Houemassou Bossa 2001, Tostain et al. 2003b, Vernier et al. 2003).

La première étape est de sélectionner un tubercule spontané. Les paysans se basent principalement sur des critères morphologiques. Au nord du Bénin, les paysans recherchent des plantes à grosse tige, pauvres en épines, au feuillage dense. Le tubercule doit être gros,

² La pratique de l'ennoblissement est plus couramment appelée "domestication". Cependant, cette pratique ne correspond pas à la domestication telle qu'elle est conçue habituellement. Le terme domestication sous-entend généralement une sélection récurrente sur les produits de reproduction sexuée, entraînant des changements génétiques associés à des changements phénotypiques forts (syndrome de domestication). Dans le cas de la "domestication" chez l'igname, l'utilisation exclusive de la multiplication végétative laisse penser que des processus différents sont en œuvre. Pour éviter toute confusion, nous appellerons cette pratique "ennoblissement" comme l'ont proposé Mignouna et Dansi (2003).

lisse et avoir une chair blanche de bon goût (Baco 2000). De fait, plus la plante ressemble morphologiquement aux ignames cultivées, plus elle a de chances d'être sélectionnée. D'après les différentes études ethnobotaniques, les paysans sélectionnent des tubercules des deux espèces sauvages *D. abyssinica* et/ou *D. praehensilis*, selon l'espèce sauvage trouvée dans la région. Seule la tête du tubercule est collectée puis est plantée en champ dans des buttes identiques à celles où sont cultivées les variétés.

Dans le nord du Bénin, l'espèce sauvage *D. abyssinica* est nommée *Dika* par les populations locales. L'ennoblissement se nomme *Dika gosiyé*, littéralement "transformation du *dika*". L'objectif du paysan qui pratique l'ennoblissement est donc de « *transformer le dika et obtenir de l'igname (cultivée)* » (Baco 2000). Pour obtenir ces modifications, les paysans stressent les plantes durant tout le processus d'ennoblissement. La pratique la plus répandue est de récolter deux fois le tubercule, comme pour une igname précoce. Certains paysans placent un obstacle dans la butte afin de limiter la croissance du tubercule (Figure 12). Selon les paysans, un seul de ces stress est pratiqué ou bien les deux sont combinés. Les tubercules soumis à cette phase de stress seront appelés ici tubercules pré-ennoblis. Le tubercule est stressé ainsi pendant plusieurs années, en moyenne 3 à 6 ans, jusqu'à ce que le paysan estime que sa morphologie est de type cultivé (Figure 12). Dans ce cas, deux possibilités s'offrent à lui. Soit le tubercule obtenu ressemble à ceux d'une variété qu'il possède, dans ce cas il mélange le tubercule ennobli aux autres tubercules de la variété et ne le gère plus de façon indépendante. Soit le tubercule obtenu ne ressemble pas à ceux d'une variété qu'il possède, dans ce cas le paysan donne un nouveau nom de variété à partir de ce tubercule, et le gère donc de façon indépendante. Si le tubercule ne convient pas au paysan, il est abandonné.

Selon cette description, l'ennoblissement est une pratique qui n'utilise que la multiplication végétative et qui conduit à l'introduction de plantes sauvages dans le pool cultivé. Les ignames sauvages étant produites par reproduction sexuée, l'ennoblissement permettrait donc l'utilisation indirecte de la reproduction sexuée des ignames sauvages par les paysans.

L'utilisation exclusive de multiplication végétative durant l'ennoblissement implique, en l'absence de mutations somatiques, l'absence de modifications génétiques. Il est donc étonnant de constater que, d'après les dires paysans, la morphologie des ignames spontanées change au cours de l'ennoblissement. Chikwendu et Okezie (1989) ont mis en culture des ignames sauvages de l'espèce *D. praehensilis* et ont observé les modifications qui en résultaient. La simple mise en culture a modifié la morphologie des plantes (perte des épines,

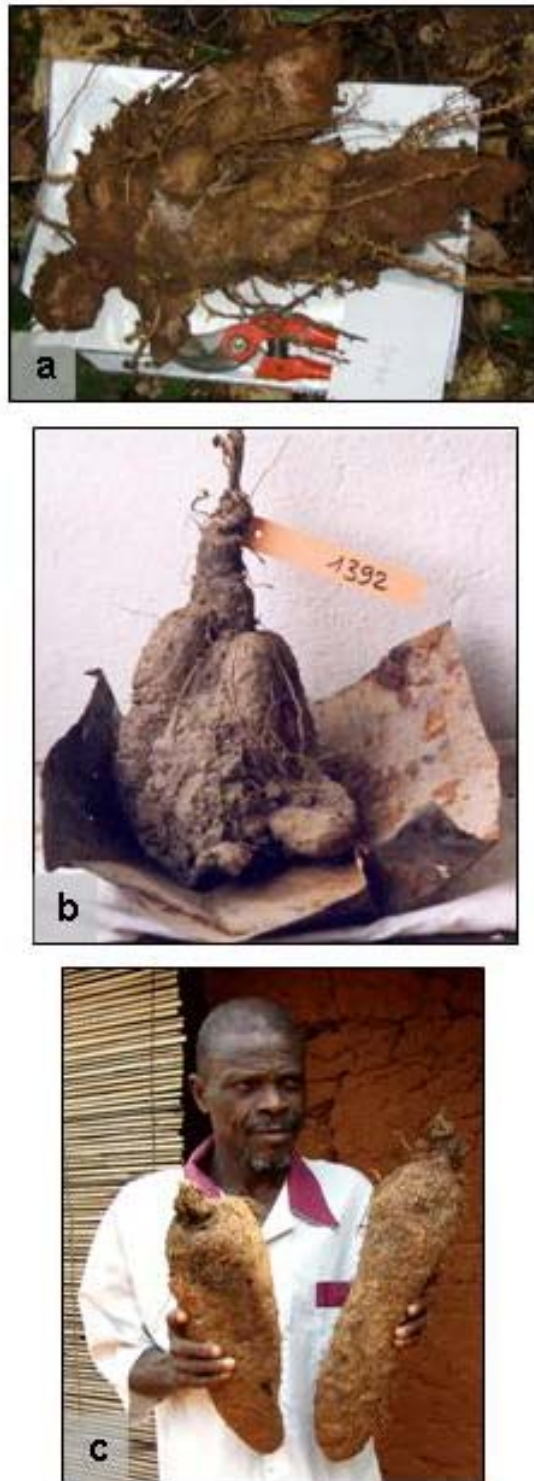


Figure 12. Illustration des trois étapes de l'ennoblissement.

(a) récolte d'un tubercule spontané, ici un tubercule de *D. praehensilis*, (b) le tubercule est stressé durant 3 à 6 ans, par exemple par la pose d'un obstacle qui doit stopper l'allongement du tubercule. Le tubercule pré-ennobli présenté ici est un *D. abyssinica*. (c) selon les paysans, certains tubercules développent une morphologie de type cultivé et sont alors intégrés dans le pool cultivé. Les tubercules présentés ici appartiennent à la variété Gban. Les paysans disent avoir créé cette variété par l'ennoblissement de *D. praehensilis*. (Photo b : S. Tostain).

feuilles différentes, plantes plus petites) et a augmenté la quantité d'amidon dans les tubercules. Dumont et Vernier (2000) notent que les plantes ennoblies retrouvent leur aspect sauvage dès qu'elles ne sont plus cultivées.

Le processus qui permet d'induire de telles modifications phénotypiques est encore inconnu. On imagine mal que seules des mutations somatiques puissent expliquer de telles transformations, surtout si la modification est réversible. On peut supposer que ces modifications résultent de plasticité phénotypique ou de modifications épigénétiques, mais aucune étude ne l'a encore démontré.

Les raisons qui poussent les paysans à pratiquer l'ennoblissement sont variées. Certains affirment que toutes les variétés existent à l'état sauvage et qu'ils veulent retrouver des variétés qu'ils ont perdues. D'autres disent que ces ignames ennoblies sont précoces et permettent de mieux aborder la période de soudure où les céréales s'épuisent mais où l'igname n'est pas encore consommable. Certains ennoblissent car ils manquent de moyens pour se procurer des semences. Enfin certains agissent ainsi par pure curiosité ou pour transmettre leurs savoirs aux jeunes (Baco 2000, Okry 2000, Houemassou Bossa 2001).

L'ennoblissement est pratiqué par peu de paysans, de 1 à 5% selon les études (Dumont 1998b, Baco 2000, Okry 2000, Houemassou Bossa 2001). Certains paysans sont rebutés par le caractère fastidieux et les échecs fréquents de la pratique, mais, dans certaines régions, la majorité des paysans semblent surtout gênés par le caractère déshonorant de la pratique. Au nord du Bénin par exemple, seuls les grands producteurs d'igname osent ouvertement avouer pratiquer l'ennoblissement. Les autres se cachent ou abandonnent pour préserver leur dignité (Baco 2000). Il est évident qu'une telle situation ne facilite ni l'identification des paysans pratiquant l'ennoblissement ni le travail sur le terrain.

b. Etat des connaissances génétiques sur la pratique de l'ennoblissement

D'après les descriptions données par les études ethnobotaniques, l'ennoblissement est une pratique qui devrait permettre d'enrichir la diversité génétique du compartiment cultivé. Pourtant, si de nombreuses études se sont attachées à décrire le processus de l'ennoblissement, peu d'auteurs ont cherché à vérifier si cette pratique met en jeu des ignames sauvages et si elle permet l'introduction de génotypes sauvages dans le pool cultivé.

Pour Dumont et Vernier (2000) et Vernier et al. (2003), il ne fait aucun doute que l'ennoblissement permet l'intégration régulière d'ignames des espèces *D. abyssinica* et *D. praeheasilis* dans le pool cultivé. Tostain et al. (2003a) ont étudié, avec des marqueurs AFLP, les relations entre l'espèce cultivée *D. rotundata* et l'espèce sauvage *D. abyssinica*. Il en ressort que les deux espèces sont bien différentes génétiquement. Si quelques individus pré-ennoblis se rapprochent génétiquement de l'espèce sauvage, un seul présente un génotype sauvage. Bien qu'on ignore si les espèces sauvages et cultivée s'hybrident spontanément, la position de ces individus suggère qu'il s'agisse d'hybrides interspécifiques. Cependant, la majorité des individus pré-ennoblis semblent appartenir à l'espèce cultivée. Ce résultat n'est pas incohérent car les différentes études ethnobotaniques indiquent que les paysans récoltent souvent les ignames à ennoblir dans des anciennes jachères où pourraient survivre des échappés de culture. De plus, les résultats ne montrent aucun individu du pool cultivé avec un génotype sauvage. Cette étude présente deux problèmes : l'échantillonnage ne contient pas de variétés décrites comme issues de l'ennoblissement et l'utilisation d'AFLP ne permet pas une assignation fiable des individus ni une mise en évidence claire d'hybrides interspécifiques. Ce travail ne permet donc pas de rejeter l'hypothèse que les paysans introduisent des ignames sauvages dans le pool cultivé *via* l'ennoblissement, cependant, cette hypothèse reste à démontrer.

Dans une autre étude, Mignouna et Dansi (2003) ont analysé la morphologie de plantes pré-ennoblies prélevées dans le nord du Bénin. Il en ressort la difficulté à classer morphologiquement les individus pré-ennoblis dans les espèces sauvages *D. abyssinica* et *D. praeheasilis* et dans l'espèce cultivée *D. rotundata*. De plus, une telle étude semble biaisée car si on admet que la morphologie des plantes pré-ennoblies se modifie, l'identification sur des critères morphologiques ne nous apparaît pas forcément fiable.

Ce manque d'information, en termes de génétique, nous amène à nous poser plusieurs questions. L'ennoblissement met-il en jeu des ignames sauvages, hybrides interspécifiques ou cultivées ? Cette pratique permet-elle réellement l'introduction de diversité dans le compartiment cultivé ? Cette pratique contribue-t-elle à augmenter la diversité intra-variétale ?

III. Le Bénin, pays d'étude

Les différents travaux de cette thèse ont été réalisés sur les ignames au Bénin. Le Bénin est le seul pays ayant bénéficié d'études approfondies sur la pratique de l'ennoblissement. Cette pratique a été étudiée durant de nombreuses années et dans différentes régions et ethnies. De plus, les collaborations entre l'IRD et le Laboratoire de Génétique (Université d'Abomey-Calavi, Cotonou) et ses étudiants facilitent l'accès aux données et aux terrains. L'échantillonnage et l'analyse ont bénéficié du travail de quatre étudiants (Baco 2000, Okry 2000, Allomasso 2001, Houemassou Bossa 2001) sur la pratique de l'ennoblissement et la culture de l'igname dans les régions nord, centre et sud du Bénin.

Le Bénin est situé en Afrique de l'Ouest, entre le Togo et le Nigeria (Figure 13), et bénéficie d'un climat tropical. Peuplé par plus de 6 millions d'habitants, le Bénin est caractérisé par une population hétérogène regroupant de très nombreuses ethnies et religions. L'économie du pays est basée sur l'agriculture (maïs, manioc, igname, sorgho, coton, palmier à huile).

Le Bénin est un pays à forte production et consommation d'igname. Avec 6,5% de la production totale d'igname en Afrique, c'est le quatrième pays producteur derrière le Nigeria (70%), le Ghana (10%) et la Côte d'Ivoire (8%) (FAOSTAT 2005). La production est basée sur l'espèce africaine *D. rotundata* (près de 95% des terres, Houemassou Bossa 2001, Baco 2003), contrairement à la Côte d'Ivoire (production basée sur l'espèce asiatique *D. alata*). Le nord du Bénin est la région la plus propice à la culture de l'igname.

Le Bénin présente le gros avantage d'avoir un climat très contrasté (Figure 14), qui nous permet d'y trouver à la fois l'espèce de savane *D. abyssinica* et l'espèce de forêt *D. praehensilis*.

Le nord du pays est caractérisé par un climat de type soudanien à soudano-guinéen avec une saison sèche de novembre à avril et une saison des pluies de mai à octobre. On observe dans cette région des savanes arborées et des forêts galeries le long des cours d'eau. Dans la partie sud de cette région (climat soudano-guinéen) se trouvent aussi des forêts sèches. *D. abyssinica* vit dans les savanes arborées. Les champs sont mis en place après défrichage et sont en majorité entourés de savanes contenant *D. abyssinica* (Baco 2000).

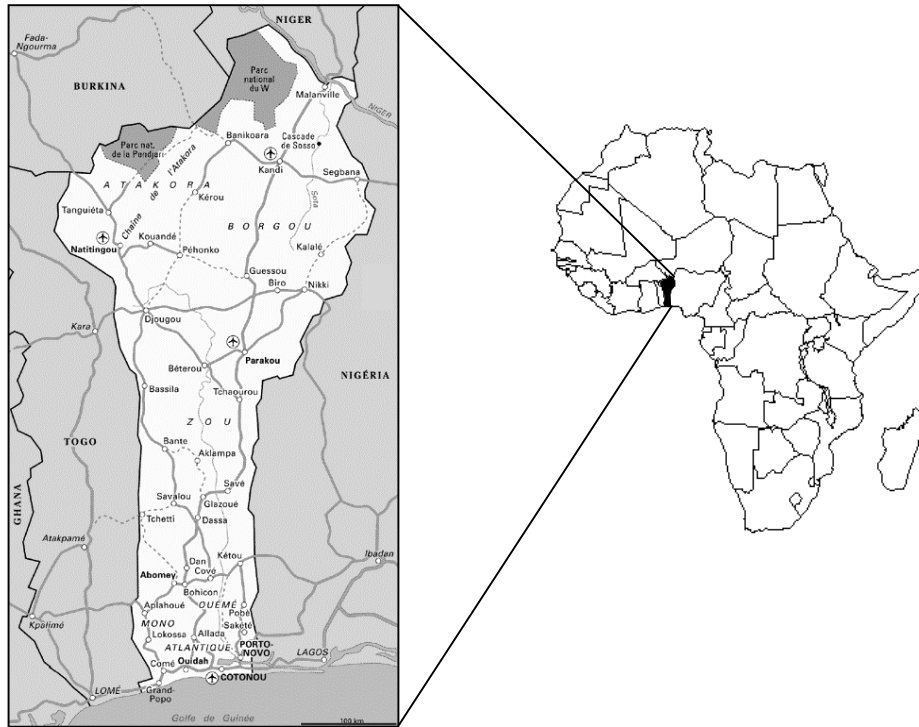


Figure 13. Situation géographique du Bénin.

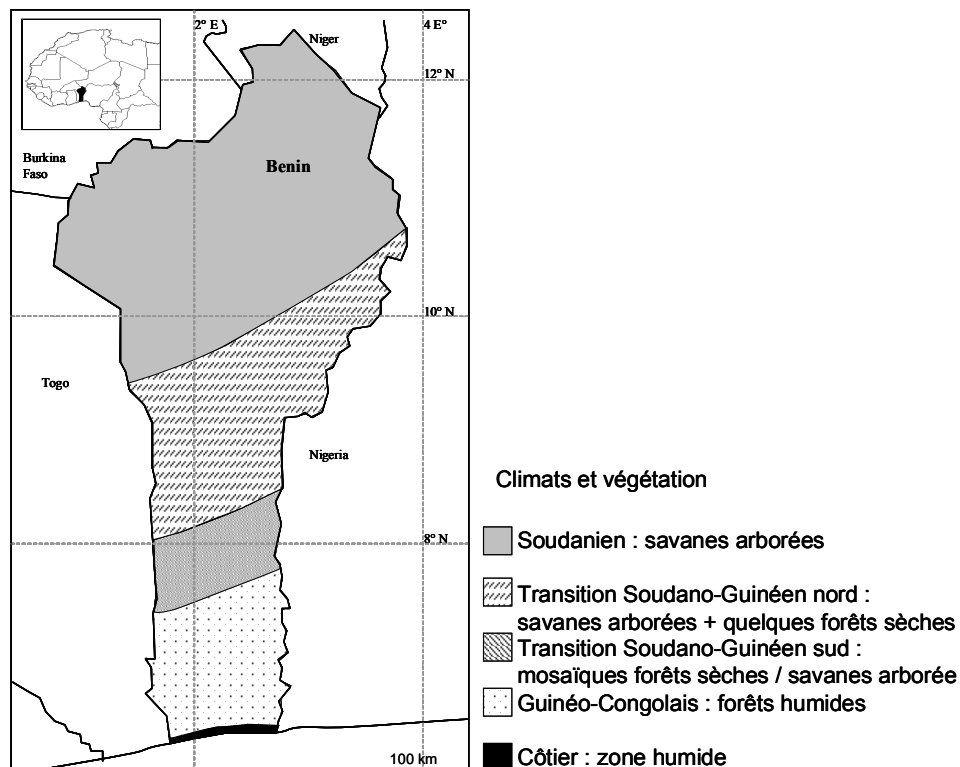


Figure 14. Répartition des climats et des grands types de végétation au Bénin (d'après Agbahungba et al. 2001)

Au sud du pays, le climat est de type guinéo-congolais et se caractérise par quatre saisons, deux saisons sèches (novembre à mars et août) et deux saisons des pluies (avril à juillet et septembre à octobre). La végétation est essentiellement constituée de forêts humides mais elle est de plus en plus remplacée par des savanes secondaires à cause de l'activité humaine. L'espèce *D. praehensilis* vit dans les forêts et se trouve à proximité des champs de culture.

Au centre du pays, on observe un climat soudano-guinéen de transition entre le climat du sud et du nord. Une saison sèche (novembre à mars) et une saison des pluies (avril à octobre) se succèdent. La végétation est essentiellement constituée de mosaïques de savanes arborées et de forêts humides. On trouve en sympatrie les deux espèces sauvages, *D. abyssinica* et *D. praehensilis* et l'espèce cultivée *D. rotundata*.

L'essentiel de notre travail a été réalisé dans 8 villages (Figure 15). Au nord du Bénin, les 4 villages choisis, Gorobani, Guessou Bani, Wari et Yarra, sont essentiellement habités par des Bariba (65% de la population) et des Gando (22%) (Baco 2000). Au centre, les deux villages choisis, Assaba et Djagballo, sont essentiellement habités par des Nagot (88%) (Okry 2000). Au sud, les deux villages choisis, Gounoukouin et Amakpa, sont essentiellement habités par des Fon (70%) (Houemassou Bossa 2001). Ces villages ont été initialement choisis pour étudier la culture de l'igname et la pratique de l'ennoblissement en raison de leur accessibilité, de la volonté de coopération des paysans et de l'importance de la culture de l'igname.

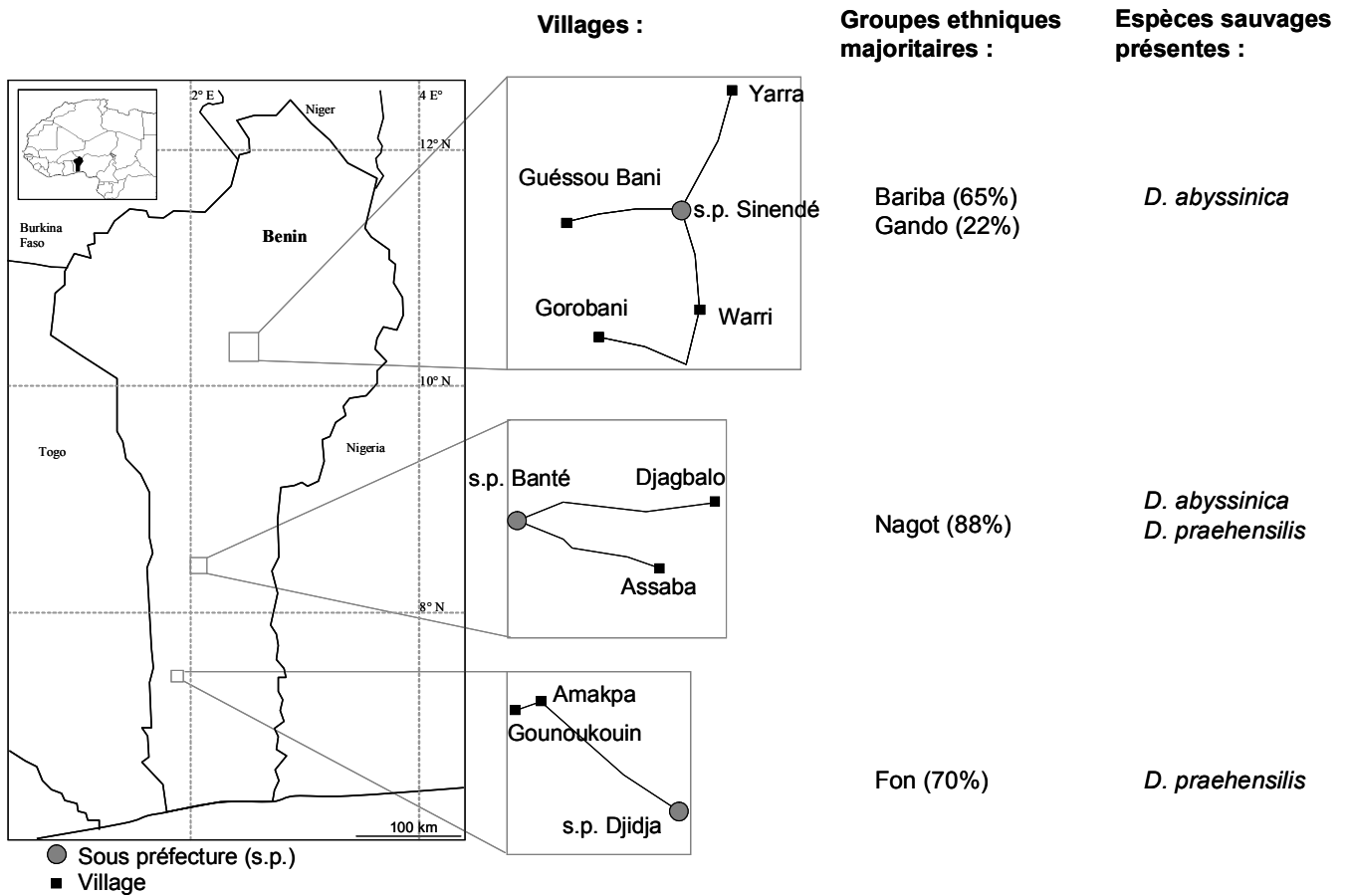


Figure 15. Répartition géographique des villages d'étude.

Les huit villages où l'échantillonnage a été réalisé sont situés dans trois régions écologiquement différentes. On y trouve les espèces sauvages *D. abyssinica* et/ou *D. praeheasilis*. Ces trois régions sont aussi culturellement différentes et ne sont pas composées des mêmes ethnies.

IV. Objectifs de l'étude

Le but de cette thèse est de comprendre comment les pratiques paysannes contribuent à la structuration et à la dynamique de la diversité d'une plante à multiplication végétative cultivée en agrosystème traditionnel, l'igname (*Dioscorea* sp.) au Bénin, en relation avec les espèces sauvages apparentées.

Dans le chapitre I, nous étudierons le niveau de ploïdie de l'igname, dont la connaissance est indispensable aux analyses ultérieures.

Puis dans le chapitre II, nous analyserons la pratique de l'ennoblissement afin de savoir si, grâce à cette pratique, les paysans contribuent à la diversification du pool cultivé.

Enfin, dans le chapitre III³, nous décrirons la structuration génétique des variétés d'ignames afin de déterminer comment la gestion variétale et l'utilisation de la sexualité contribuent à l'organisation de la diversité des variétés.

Chapitre I. Le niveau de ploïdie de l'igname.

Si l'espèce cultivée *D. rotundata* est habituellement considérée comme tétraploïde ($2n=4x=40$), nous avons vu que cette hypothèse a été remise en cause récemment. Avant de pouvoir réaliser une étude génétique, il est indispensable de savoir quel est le niveau de ploïdie des ignames sur lesquelles nous allons travailler (*D. rotundata*, *D. abyssinica* et *D. praehensilis*).

Nous étudierons donc la ségrégation de marqueurs microsatellites sur une descendance d'igname obtenue par l'autofécondation d'un individu monoïque de l'espèce *D. rotundata*. Puis nous analyserons le comportement de ces marqueurs dans des populations naturelles des espèces sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis* et de l'espèce cultivée *D. rotundata*.

Chapitre II. Ennoblement et reproduction sexuée.

Les éléments présentés dans les parties précédentes de cette introduction nous permettent d'aborder la diversité des ignames au Bénin sous forme de deux compartiments

³ Ces trois chapitres sont organisés selon le plan suivant : bref résumé du contexte et des objectifs, Matériels et Méthodes, Résultats, Discussion. Dans le cas des deux premiers chapitres, qui ont fait l'objet d'articles (acceptés ou en préparation), les articles présentent les parties Résultat et Discussion, et dans le cas du premier chapitre, la partie Matériels et Méthodes.

distincts (Figure 16). D'une part, on trouve les ignames cultivées (*D. rotundata*), de l'autre les ignames sauvages (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*). Ces deux compartiments sont supposés reliés d'une part par les hybridations interspécifiques, d'autre part par la pratique paysanne de l'ennoblissement, qui introduirait des individus sauvages et hybrides dans le compartiment cultivé. Dans cette partie, nous étudierons les flux entre les compartiments sauvages et cultivés.

Dans un premier temps, nous travaillerons dans un village correspondant à une zone de sympatrie entre l'espèce cultivée *D. rotundata* et l'espèce sauvage *D. abyssinica*. A travers l'analyse de descendances récoltées sur des ignames femelles de ces deux espèces, nous déterminerons si les hybridations interspécifiques se produisent spontanément. Puis nous analyserons la diversité des populations sauvages locales pour déterminer si des individus hybrides sont recrutés dans le compartiment sauvage.

Dans un deuxième temps nous analyserons le processus d'ennoblissement à un niveau très localisé, un village du nord du Bénin. Après avoir caractérisé génétiquement les populations sauvages (*D. abyssinica*) et cultivées (*D. rotundata*) locales, nous déterminerons à quelle espèce appartiennent les individus pré-ennoblis récoltés dans le même village. Puis, nous rechercherons dans la population cultivée locale des traces d'introduction d'individus hybrides ou sauvages.

Enfin, nous élargirons cette étude à l'ensemble du Bénin. Nous caractériserons génétiquement les populations béninoises d'ignames sauvages (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*) et cultivées (*D. rotundata*). Puis nous déterminerons à quelle espèce appartiennent les individus pré-ennoblis récoltés dans plusieurs villages du Bénin. Enfin, nous rechercherons dans le pool cultivé béninois des traces d'introduction d'individus hybrides ou sauvages. Cette analyse nous permettra de savoir si les conséquences de l'ennoblissement sont généralisables à des régions culturelles et climatiques différentes.

Chapitre III. Structuration génétique et gestion variétale.

A l'intérieur du compartiment cultivé, nous considérons deux niveaux d'organisation de la diversité : le paysan, qui gère son pool d'igname indépendamment des autres paysans, et la variété, qui est gérée indépendamment des autres variétés par chaque paysan.

Nous avons vu précédemment que des migrations de tubercules, entre les variétés d'un même paysan et entre les variétés de paysans différents (Figure 16), participent à l'organisation de la diversité des ignames cultivées. Nous avons vu aussi que l'introduction de

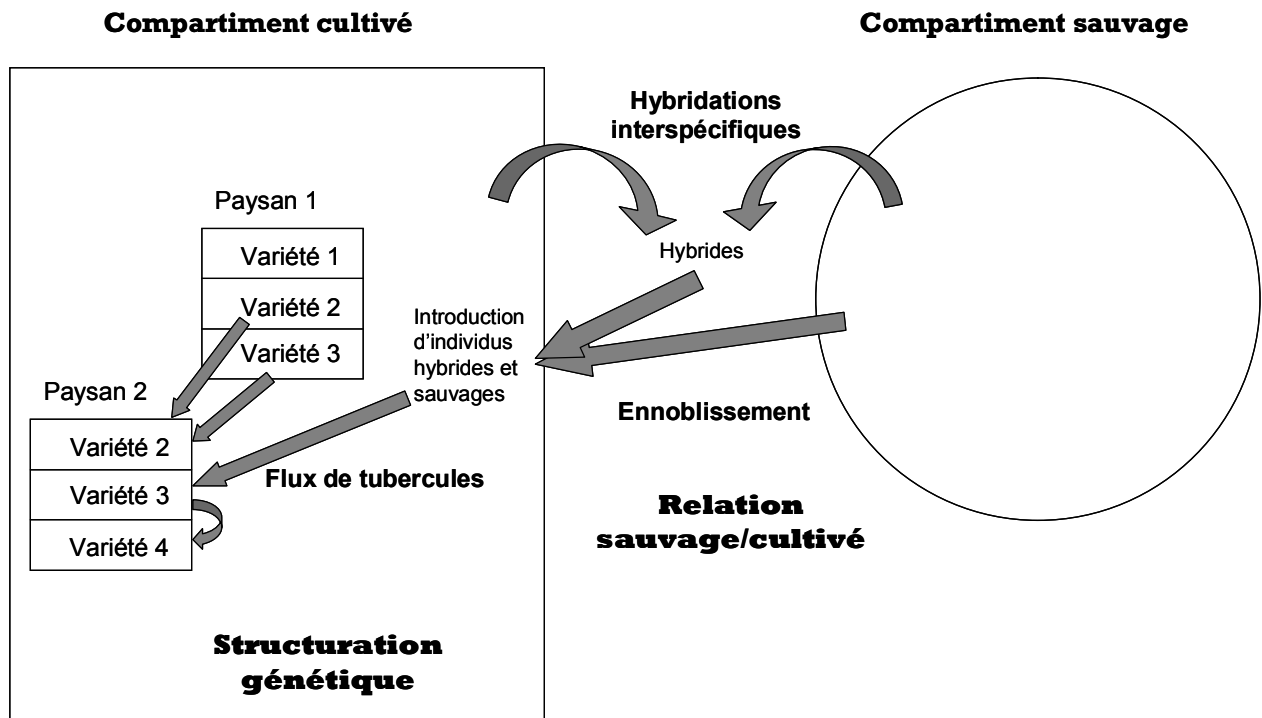


Figure 16. Structuration de la diversité génétique des ignames : hypothèses de travail.

La diversité des ignames se structure en deux grands ensembles : le compartiment des ignames sauvages et le compartiment des ignames cultivées. Ces deux compartiments sont reliés par les hybridations interspécifiques et l'ennoblissement. Au sein du compartiment des ignames cultivées, la diversité se structure en champs, chaque paysan gérant son champ indépendamment des autres paysans, et se sous-structure en variétés. Des flux de tubercules entre les variétés, entre les paysans, et depuis le compartiment sauvage contribuent à la diversification et à la structuration du compartiment cultivé

produits de reproduction sexuée dans les variétés cultivées peut contribuer à la diversification du pool cultivé. Dans cette partie, nous analyserons l'organisation de la diversité du compartiment cultivé et nous verrons ce qu'elle reflète de la gestion paysanne et du mode de reproduction de l'igname.

Dans une première partie, nous analyserons la diversité génétique observée au niveau des variétés. Nous chercherons à distinguer les génotypes créés par reproduction sexuée de ceux créés par mutation et nous verrons comment ces deux classes de génotypes se répartissent dans les variétés cultivées.

Enfin, nous analyserons la diversité génétique observée dans les champs d'ignames cultivées. Nous verrons si les paysans gèrent un pool génétique similaire ou au contraire si chaque champ se différencie génétiquement des autres champs.

CHAPITRE I.

LE NIVEAU DE PLOÏDIE DE L'IGNAME

Les espèces d'igname africaines sont généralement considérées comme polyploïdes avec un nombre de base de chromosomes de 10 (9 pour certaines espèces). Cependant, Daïnou et al. (2002) ont remis en cause cette hypothèse et suggèrent que l'espèce cultivée *D. rotundata* puisse être diploïde avec un nombre chromosomique de base de 20.

Le but de cette étude est d'obtenir de nouveaux éléments permettant d'infirmier ou de confirmer l'hypothèse de diploïdie de *D. rotundata*. Pour cela, nous avons analysé la ségrégation de marqueurs microsatellites. Nous avons aussi étudié le comportement de ces marqueurs microsatellites dans des populations sauvages (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*) et cultivées (*D. rotundata*). Les résultats de cette étude nous permettront par la suite de choisir de réaliser les analyses de génétique des populations selon un modèle diploïde ou tétraploïde.

Les parties Matériels et Méthodes, Résultats et Discussion sont présentées dans un article, "Segregation patterns of isozyme loci and microsatellite markers show the diploidy of African yam *Dioscorea rotundata* (2n=40)", publié dans *Theoretical and Applied Genetics*.

Article I : Segregation patterns of isozyme loci and microsatellite markers show the diploidy of African yam *Dioscorea rotundata* ($2n=40$)

Nora SCARCELLI, Ogoubi DAÏNOU, Clément AGBANGLA, Serge TOSTAIN et
Jean-Louis PHAM

Theoretical and Applied Genetics, 11: 226-232 (2005)

ORIGINAL PAPER

Nora Scarcelli · Ogoubi Daïnou · Clément Agbangla
Serge Tostain · Jean-Louis Pham**Segregation patterns of isozyme loci and microsatellite markers show the diploidy of African yam *Dioscorea rotundata* ($2n = 40$)**Received: 16 December 2004 / Accepted: 12 March 2005 / Published online: 2 June 2005
© Springer-Verlag 2005

Abstract The cultivated yam species *Dioscorea rotundata* ($2n = 40$) has been considered by most authors as a tetraploid species with a basic chromosome number of ten. In this paper, we analysed the segregation of two isozyme loci and six microsatellite markers in the progeny of a self-fertilised monoecious plant. For the eight markers, segregation patterns could be explained by only two genetic models: diploidy or tetraploidy with two null alleles. Given the nature of studied markers, the most parsimonious hypothesis was that the parental plant was diploid. These results, data from a diversity survey and results of other authors led to the conclusion that *D. rotundata* is a diploid species.

Keywords Yam · *Dioscorea rotundata* · Ploidy level · Microsatellite · Isozyme · Segregation

Introduction

Yam (*Dioscorea* sp.) is cultivated for its tuber production in tropical countries. The most cultivated species in Africa, *Dioscorea rotundata* (section *Enantiophyllum*), has 40 chromosomes. Based on indirect conclusions, such as the existence of $2n = 20$ yam species in the section *Stenophora* (Mignouna et al. 2002), the tetraploidy of this species has been assumed by most authors (e.g. Dansi et al. 2000; Gamiette et al. 1999; Hamon et al.

1992; Miege 1952; Mignouna et al. 2002; Zoundjhekon et al. 1990).

Under this assumption, one would therefore anticipate the detection in individual genotypes of up to four alleles per DNA marker locus in diversity studies of *D. rotundata*, as observed in several tetraploid species (e.g. *Borderea* sp. and *Medicago* sp. by Segarra-Moragues et al. 2004 and Diwan et al. 2000, respectively). However, when doing a preliminary survey of *D. rotundata* diversity with 11 microsatellite loci, we found only one or two alleles per locus in every genotype. Although this does not rule out the possibility of this species being a tetraploid, it strongly suggests considering a diploid hypothesis.

Daïnou et al. (2002) were the first authors to propose diploidy of *D. rotundata*. They mostly based their conclusion upon the segregation ratios observed for isozymes in the progeny of a self-fertilised monoecious *D. rotundata* plant. Diploid segregations of AFLP and isozymic markers were also observed in progenies of *D. rotundata* plants (Mignouna et al. 2002; Zoundjhekon et al. 1994), although these authors did not use their results to challenge the tetraploid status of *D. rotundata*.

However, the above papers do not permit a conclusion as to the diploidy of *D. rotundata*. The hypothesis of null alleles in tetraploid genotypes needs to be considered as a possible explanation to the observed segregations. It was considered, but not tested, by Daïnou et al. (2002).

The present work aimed at reaching reliable conclusions on the ploidy level of *D. rotundata*, which is a basic biological data for yam breeders. Moreover, the increasing use of microsatellite markers for the diversity analysis of African yam species makes it necessary to get a better knowledge of their genetic determinism. In this study, we analysed the segregation patterns of six microsatellite loci in the selfed progeny of a heterozygote monoecious plant showing two alleles at each of these. We also re-analysed the segregation patterns of the two isozyme markers obtained by Daïnou et al. (2002) on the same progeny. All potential segregation ratios expected

Communicated by E. Guiderdoni

N. Scarcelli (✉) · S. Tostain · J.-L. Pham
Equipe DYNADIV, UMR 1097 Diversité et Génomes des Plantes
Cultivées, Institut de Recherche pour le Développement (IRD),
BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5, France
E-mail: nora.scarcelli@mpl.ird.fr
Tel.: +33-467-416245
Fax: +33-464-416222

O. Daïnou · C. Agbangla
Laboratoire de Génétique, FAST-Université d'Abomey-Calavi,
BP 526, Cotonou, Bénin,

in the self-fertilisation of a heterozygote genotype under diploid, allo- and autotetraploid models were tested. We first showed that only the diploid model and the allotetraploid model with two null alleles were consistent with the observed ratios. We then explained why, given the nature of studied markers and data of a diversity survey, we came to the conclusion that *D. rotundata* ($2n=40$) is a diploid species.

Material and methods

Segregation analysis

Plant material

Although *D. rotundata* is a dioecious species, some monoecious plants were found in the variety Gnidou. These plants allowed us to produce a selfed progeny.

Yam is a vegetatively propagated crop. Farmers define yam varieties with morphological criteria. A given variety may then encompass several clones, even at the field level. To ensure the production of a selfed progeny despite the potential polyclonality of Gnidou variety, several clonal seedlings were first produced by division of a single tuber of a *D. rotundata* plant. This plant was monoecious with $2n=40$ chromosomes (Dansi et al. 2000). The clonal plants were grown in an isolated field. The seeds were collected and were assumed to result from self-fertilisation or from cross-pollination between plants, which was equivalent to a self-fertilisation. Reproductive isolation of the field was confirmed by the absence in the progeny of any other allele than the parental ones.

Isozymes

Isozyme analysis was performed in the Laboratory of Genetics in Cotonou. Seeds from the Gnidou progeny were germinated. Extraction of proteins was done using 1-month-old leaves crushed in the buffer slightly modified from Hamon and Touré (1982) (no potassium cyanide and only 1% of mercaptoethanol). Individuals analysed for isozyme segregations were not the same as those used for microsatellite studies.

Two isozymes were analysed: 6-phosphogluconate dehydrogenase [(PGD) EC 1.1.1.44] and phosphoglucomutase [(PGM) EC 5.4.2.2]. Fifty-five and 208 other individuals were analysed for PGM and PGD, respectively. A 13% starch gel was prepared using a solution of histidine (5 m M) and NaCl (2.5 m M) at pH 6.25. Electrophoresis was conducted using a buffer of citric acid (0.41 m M) at pH 6 during 5 h at 100 mA. Enzyme assays were conducted as described by Second and Trouslot (1980).

Microsatellite markers

Ninety individuals, corresponding to 90 seeds of the progeny, were analysed at IRD Montpellier for segre-

gation at microsatellite loci. DNA extraction was done from single seeds. Seeds were broken and treated three times with sorbitol buffer [0.35 M sorbitol, 0.1 M Tris-HCl, 5 m M ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and 0.5% bisulfite for the first treatment only with centrifugation at 9,000 g, 10 min, 4°C]. Samples were incubated in Matab buffer (1.2 M NaCl, 0.1 M Tris-HCl, 20 m M EDTA and 4% Matab) for 4 h at 65°C. Samples were treated twice with chloroform/isoamyl 24:1 (centrifugation 9,000 g, 10 min, 10°C). DNA was precipitated with 0.6 vol of isopropanol (centrifugation 14,000 g, 15 min, 4°C), washed in 70% ethanol, dried and re-suspended in sterile water.

Twenty microsatellite primers, 17 defined in our laboratory (unpublished data) and three defined by Mignouna et al. (2003), were amplified in the Gnidou parent. Two alleles at most were observed at each locus. Fourteen loci were monoallelic. The progeny was analysed for the six microsatellite loci showing two alleles in the parental genotype (loci 2D08, 3D06, 3F04, 3F10, 3F12 and YM13). PCRs were done in 10 µl with dNTP (200 µM), *Taq* polymerase (0.05 U) in its buffer (1X), MgCl₂ (2.5 m M), forward primer tailed (3F04-M13, 2D08-T7; 0.01 µM) or labelled (3D06, 3F10, 3F12, YM13; 0.25 µM), reverse primer (0.15 µM for 3F04 and 2D08, 0.25 µM for the other) and M13 or T7 labelled primer (0.15 µM) for 3F04 and 2D08. Amplifications were performed by 35 PCR cycles (94°C for 3 min, 94°C for 1 min, 56°C for 1 min, -1°C per cycle, 72°C for 1 min for five cycles, 94°C for 1 min, 51°C for 1 min, 72°C for 1 min for 30 cycles and 72°C for 8 min). The migration was done using an ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, Foster City, Calif., USA). The analysis of intensity profiles to score the alleles was done with software Genescan and Genotyper (Applied Biosystems).

Models for statistical analysis

Let A and B be the two co-dominant alleles at one locus. If the phenotype of the parent is (AB), then the parental genotype could be AB if the species is diploid, or AAAB, AABB and ABBB if the species is tetraploid. Three phenotypes are expected in the progeny of self-fertilisation: (A) corresponding to genotypes AA and AAAA; (AB) corresponding to genotypes AB, ABBB, AABB, and AAAB; and (B) corresponding to genotypes BB and BBBB. If O is a null allele, potential parental genotypes are AABO, ABBO and ABOO. Ten new genotypes are then expected in progeny: AAAO, AAOO, AOOO, BBBO, BBOO, BOOO, AABO, ABBO, ABOO and OOOO. The expected proportions of each phenotype in the progeny under diploid and tetraploid model with disomic (allotetraploid model) and tetrasomic (autotetraploid model) inheritance are given for each possible parental genotype in Table 1.

Goodness of fit of observed frequencies to expected proportions in each of these models were tested using a χ^2 test or a Fisher's exact test if one expected frequency was less than 5.

Table 1 Expected ratios of phenotypes in the progeny of a self-fertilisation for all potential parental genotypes with a phenotype (AB)

Genetic model for parental genotype ^a	Phenotypic ratio expected in progeny				
	(OO)	(AA)	(AB)	(BB)	
AB	1:2:1	0	1/4	1/2	1/4
AA/BB	1	0	0	1	0
AB/AB	1:14:1	0	1/16	14/16	1/16
AA/AB, AAAB	1:3	0	1/4	3/4	0
AB/BB, ABBB	3:1	0	0	3/4	1/3
AO/AB	4:11:1	0	4/16	11/16	1/16
OB/AB	1:11:4	0	1/16	11/16	4/16
AA/OB	1:3	0	1/4	3/4	0
AO/BB	3:1	0	0	3/4	1/4
AO/BO	1:3:9:3	1/16	3/16	9/16	3/16
AB/OO	1:2:1	0	1/4	1/2	1/4
AABB	1:34:1	0	1/36	34/36	1/36
AABO	9:26:1	0	9/36	26/36	1/36
ABBO	1:26:9	0	1/36	26/36	9/36
ABOO	1:8:19:8	1/36	8/36	19/36	8/36

^aIn case of allotetraploidy, the two genomes segregate independently (disomic segregation). This was represented by separating the two genomes with a forward slash. For example, AA/BB means that the genotype is AA on the first genome and BB on the second one. In case of autotetraploidy, the two genomes segregate together (tetrasomic segregation) and were represented without a forward slash, for example, AABB

Independence of microsatellite loci was tested using Mapdisto 1.3.2 (available at <http://mapdisto.free.fr/>).

Diversity survey

One hundred and eighty-one samples of *D. rotundata*, representing the most cultivated varieties of Benin (Dansi et al. 2000), 245 *D. abyssinica* and 63 *D. praehensilis* were collected in Benin. *D. abyssinica* and *D. praehensilis* were considered by Hamon et al. (1997) and Terauchi et al. (1992) as wild relatives of *D. rotundata*. These two species have been assumed to be tetraploid, with 2n=40 chromosomes (Miege 1952).

Eleven microsatellites (1A01, 3B12, 1C12, 2C05, 2D06, 2D08, 2E07, 2E09, 1F08, 3F04 and 3G04, unpublished data) were amplified as explained above. In this paper, only data on heterozygosity and number of alleles per locus are presented.

Results

Segregation analysis

Isozyme loci

The PGM banding pattern of the parent showed four bands, two slow and two fast (Fig. 1a). The two slow bands showed no polymorphism in the progeny. The segregation of the two fast bands (1/2) showed three

phenotypes, (1), (1/2) and (2), in the proportions given in Table 2. The χ^2 tests rejected all models except those of diploidy and tetraploidy with two null alleles.

The PGD banding pattern of the parent showed three bands (1/2/3, Fig. 1b). In the progeny, we observed one phenotype with the fast band (1), one with the three parental bands (1/2/3) and one with two bands (1/3, Fig. 1b) in proportions in Table 2. This banding pattern was previously observed by Zoundjiekpon et al. (1994).

PGD was described by Weenden and Wendel (1989) as dimeric and coded by two genes. We could explain the banding patterns when considering that: (1) the parent has two alleles for the first gene, coding for two monomers which bind to produce two homodimers (corresponding to the bands 1 and 3) and one heterodimere (corresponding to the band 2), and (2) the parent is homozygote for the second gene which produces a homodimere that co-migrates with the homodimere corresponding to the band 1 of the former gene. Under these assumptions, the χ^2 tests rejected all models except the diploid model and the tetraploid models with two null alleles, ABOO and AB/OO (Table 3).

Microsatellite loci

Microsatellite profiles of the parent showed only two alleles for each of the six non-monoallelic loci. The observed phenotypes were: (138/144) (bp) for 3F04, (353/371) for 2D08, (143/145) for 3D06, (156/158) for 3F10, (162/164) for 3F12 and (220/227) for YM13 (Fig. 2a). In the progeny, three phenotypes were obtained for each

Fig. 1 Banding patterns obtained in the Onidou parent and in the progeny for the isozymic loci phosphoglucomutase (PGM) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (PGD). Numbers are those of the bands, as used in the text

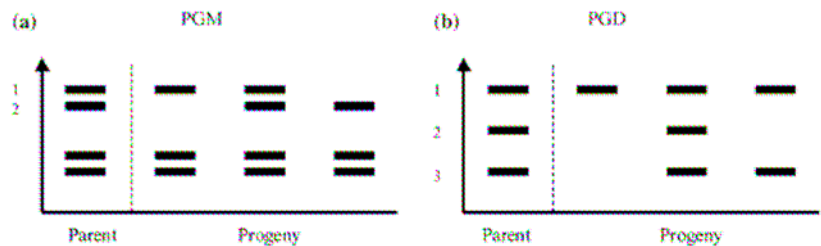


Table 2 Phenotypes observed in the parent and in the progeny, and observed frequencies

		Phenotype of parent	Phenotype of progeny and observed frequencies		
Microsatellite loci ^a	2D08	(353/371)	19 (353)	44 (353/371)	26 (371)
	3D06	(143/145)	25 (143)	41 (143/145)	24 (145)
	3F04	(138/144)	18 (138)	48 (138/144)	18 (144)
	3F10	(156/158)	19 (156)	45 (156/158)	26 (158)
	3F12	(162/164)	26 (162)	43 (162/164)	21 (164)
	YM13	(220/227)	24 (220)	40 (220/227)	26 (227)
	Global analysis	(AB)	107(AA)	213(AB)	129(BB)
Isozyme loci	PGD	(1/2/3)	51 (1)	104 (1/2/3)	53 (1/3)
	PGM	(1/2)	11 (1)	26 (1/2)	18 (2)

^aFor microsatellite loci, phenotypes are given in base pairs. Frequencies used for the global analysis were the sum of frequencies of phenotypes observed at loci 2D08, 3D06, 3F10, 3F12 and YM13

Table 3 *P*-values obtained for a *Khi2* test to compare the expected ratios given in Table 1 and the observed frequencies given in Table 2

Genetic model for parental genotype	Expected ratio	df	<i>P</i> -values for <i>Khi2</i> tests of goodness of fit								
			Microsatellite loci						Isozyme loci		
			2D08	3D06	3F04	3F10	3F12	YM13	Global analysis	PGD ^a	PGM ^b
AB	1:2:1	2	0.424	0.573	0.693	0.580	0.693	0.549	0.189	0.981	0.378
AA/BB	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
AB/AB	1:14:1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AA/AB, AAAB	1:3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
AB/BB, AB BB	3:1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
AO/AB	4:1:1:1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.002
OB/AB	1:11:4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.036
AA/OB	1:3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
AO/BB	3:1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
AO/BO	1:3:9:3	3	0.116	0.008	0.013	0.008	0.040	0.005	0	0.000	0.122
AB/OO	1:2:1	2	0.424	0.573	0.693	0.580	0.693	0.549	0.189	0.981	0.378
AABB	1:34:1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AABO	9:26:1	2	0	0	0.001	0	0	0	0	0	0
ABBO	1:26:9	2	0	0	0.001	0	0	0	0	0	0.004
A BOO	1:8:19:8	3	0.397	0.317	0.582	0.404	0.364	0.267	0	0.056	0.492

If the expected frequencies were less than 5, a Fisher's exact test was done. Non-significant *P*-values (*P* > 0.050) are in *boldface*. Models were rejected without test (–) when the expected proportion for one observed phenotype was null

^aPGD 6-Phosphogluconate dehydrogenase

^bPGM Phosphoglucomutase

locus, corresponding to two different homozygotes and one heterozygote. The observed frequencies of each phenotype are given in Table 2. As for isozymic loci, only the diploid model and the tetraploid models with two null alleles were compatible with the observed segregations.

All microsatellite loci were found independent using a LOD score equal to 4, but 3F04 and 3F12 were loosely linked using a LOD score equal to 3 (*r* = 28.6 cm, Kosambi distance).

We used this result to make a global analysis by pooling segregations of loci 2D08, 3D06, 3F10, 3F12 and YM13. Global multilocus frequencies for phenotypes (AA) and (BB) were computed to get the most unbalanced totals, by summing for (AA) the smallest frequencies of homozygotes at each locus, and for (BB) the highest frequencies of homozygotes for each locus (Table 2). From this multilocus analysis, only two models were accepted (Table 3): diploidy, and allotetraploidy with null alleles (AB/OO). These two models could not be distinguished since expected ratios in the progeny were the same (1:2:1) for both models.

Diversity survey

Microsatellites loci revealed a high diversity. A total of 250 alleles were amplified in the three species in 11 loci (Table 4). The mean number of alleles varied from 11.5 for *D. rotundata* to 19.4 for *D. abyssinica* and all loci had four or more alleles in each species. Results supported the diploidy hypothesis. Almost all individuals displayed only one or two alleles per locus. In heterozygote individuals, peak areas were similar and compatible with the presence of one copy of each allele (Fig. 2b). Out of the 5,172 data points produced, only eight (0.15%) could be interpreted as three or four alleles and were found in six individuals out of the 489 studied (one *D. rotundata*, two *D. abyssinica* and three *D. praehensilis*) at only one or two loci for each of these individuals (loci 1A01, 2C05, 2E07, 2E09 and 1F08). Presence of supernumerary alleles was previously observed in diploid species like maize and grapevine (e.g. Franks et al. 2004; Matsuoka et al. 2002) and could be explained by DNA contamination, amplification of a non-specific allele or chimerism.

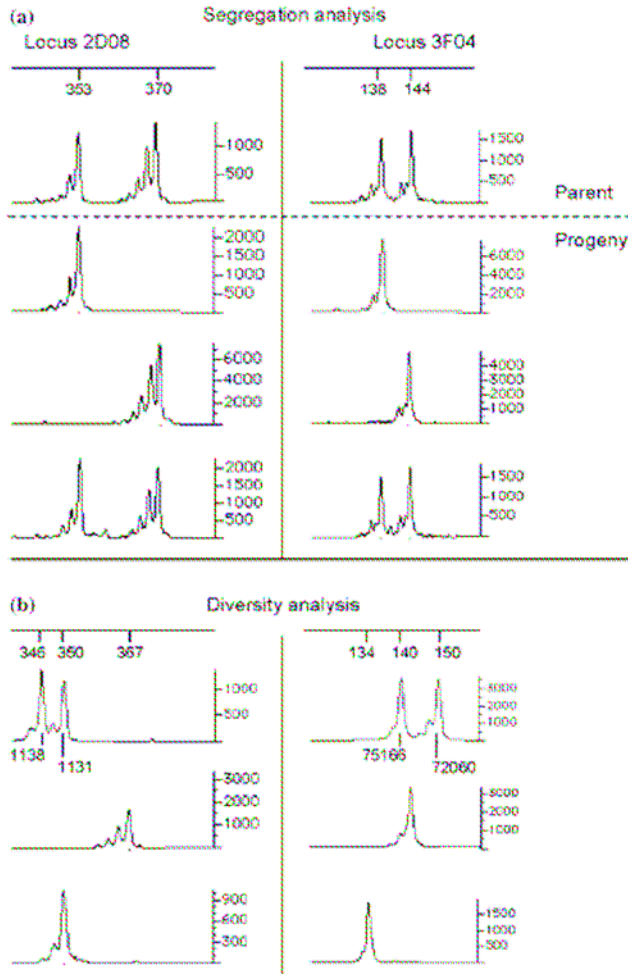


Fig. 2 Examples of electropherogram obtained for microsatellite loci 2D08 and 3F04 with the automated sequencer ABI Prism 3100 and analysed with software Genotyper. a Banding patterns obtained in the segregation analysis. The parent and one example of each genotype obtained in progeny are represented. b Example of genotypes obtained in the diversity analysis. For heterozygote individuals, *annotation* indicates the peak area

Discussion

Eight markers were analysed in the selfed progeny of the Gnidou parent, two isozyme and six microsatellite loci. If we consider all the tests done, only two genetic models were consistent with observed segregations: the diploid model and the allotetraploid model with null alleles on one of the two genomes (AB/OO).

The allotetraploid model is unlikely for several reasons. Null alleles are common for isozyme (Weenden and Wendel 1989) and microsatellite loci (Dakin and Avise 2004 for a review), but it would be unlikely to observe in one genome eight randomly sampled markers homozygote for null alleles (this also applies to the autotetraploid model with two null alleles we rejected after the multilocus analysis).

Only a complex set of hypotheses could explain why segregations at both isozyme and microsatellite loci reflect the allotetraploid model with null alleles. For isozyme markers, gene silencing can produce a diploid pattern (Wendel 2000 for a review). This cannot be excluded from our data, but it should then be associated with the non-detection of microsatellite polymorphism in one of the two genomes. As microsatellites are generally specific to a small number of species, we might have amplified only one genome. However, the microsatellites we used were initially chosen to amplify in other very different yam species (unpublished data): *D. alata* and *D. nummularia* (Asian species), *D. trifida* (Caribbean species), *D. bulbifera*, *D. abyssinica* and *D. praehensilis* (African species). If there were a non-amplified genome in *D. rotundata*, we would have to conclude that this genome is more distant to African species than Asian or Caribbean species are. It sounds very unlikely, even though the origin of *D. rotundata* is not clearly assessed (Hamon et al. 1997; Terauchi et al. 1992).

Overall, as suggested by the preliminary analyses of Dainou et al. (2002), the diploidy of *D. rotundata* is the most parsimonious hypothesis.

Table 4 Allele diversity at 11 microsatellite loci in the cultivated species *D. rotundata* and the two wild species *Dioscorea abyssinica* and *D. praehensilis*. H_{obs} Observed heterozygosity

Loci	<i>D. rotundata</i>		<i>D. abyssinica</i>		<i>D. praehensilis</i>		Total no. of alleles
	H_{obs}	No. of alleles	H_{obs}	No. of alleles	H_{obs}	No. of alleles	
1A01	0.16	6	0.62	14	0.75	12	17
3B12	0.29	9	0.26	12	0.43	6	15
1C12	0.63	8	0.11	8	0.22	4	11
2C05	0.81	14	0.80	34	0.82	23	36
2D06	0.84	13	0.83	19	0.73	19	22
2D08	0.84	14	0.84	26	0.73	15	28
2E07	0.83	18	0.78	27	0.68	25	33
2E09	0.17	8	0.80	17	0.70	11	19
1F08	0.61	8	0.65	13	0.76	9	14
3F04	0.69	14	0.82	24	0.85	20	29
3G04	0.52	15	0.54	19	0.56	17	26
Total	–	127	–	213	–	161	250
Mean	0.58	11.5	0.64	19.4	0.66	14.6	22.7

Is this conclusion weakened by the fact that it was drawn from the study of the progeny of a monoecious *D. rotundata* plant, which is an exception in this normally dioecious species? In other words, could diploidy and monoecy of the parental plant be related? As far as we know, literature does not provide any example to support this hypothesis. Exceptional bisexual plants were found in other dioecious species (Rottenberg 2000). Investigations on the interactions between ploidy and sexual systems have led to heterogeneous conclusions (Miller and Venable 2000; Pannel et al. 2004), but were conducted in species complexes that include species with different chromosome numbers. The case of Gnidou genotype is different as it displays the same chromosome number as dioecious *D. rotundata* plants. We thus think that the conclusion on its diploidy can be extended to the *D. rotundata* genotypes with the same chromosome number ($2n=40$).

This is supported by the consistency with the diploid model of results that were obtained by other authors from studies of dioecious *D. rotundata* plants. Zoundjihekpon et al. (1994) observed in progenies of controlled hybridisations of dioecious *D. rotundata* a diploid segregation for isocitrate dehydrogenase, esterase, saccharopine dehydrogenase and malate dehydrogenase enzyme systems.

In the same species, Mignouna et al. (2002) analysed the segregation of 341 AFLP markers to develop a genetic linkage map. Citing Hahn (1995), they concluded that his allotetraploidy hypothesis was supported by the disomic inheritance obtained in the studied progenies and because chromosome pairing showed 20 bivalents during meiosis. It must first be noted that Hahn's evolutionary scenario proposes the autotetraploidy of *D. rotundata*, not its allotetraploidy. More crucial is the fact that the allotetraploid model cannot be accepted from these AFLP data. As mentioned by these authors themselves, Mignouna et al. (2002) obtained diploid segregations (i.e. not only disomic segregations) and they eventually considered *D. rotundata* as diploid for the mapping analysis.

Finally, we showed that the diploidy of *D. rotundata* was also supported by the allele diversity analysis. The survey of a large number of plants with 11 highly polymorphic microsatellite loci showed that plants of cultivated species *D. rotundata* and wild species *D. abyssinica* and *D. praehensilis* displayed at most two alleles at each locus. As discussed above, the hypothesis of non-amplification of a genome is very unlikely given the way microsatellite primers were constructed and selected.

Conclusion

D. rotundata ($2n=40$) can be considered as a diploid species with a basic chromosome number $x=20$. This is strongly supported by the sum of observations obtained in our study and in those of authors already cited: (1) only one or two alleles per genotype were observed at

microsatellite loci in diversity surveys; (2) isozyme patterns could be explained by a diploid model; (3) only bivalents were observed during meiosis; (4) diploid segregations were obtained in isozymic, AFLP and microsatellite markers; and (5) the nature of genetic markers used in our study makes the allotetraploid model with null alleles extremely unlikely.

The extant diploidy of *D. rotundata* does not preclude its allotetraploid origin. Diploidisation of genomes after their polyploidisation has been documented for several wild and cultivated plant genomes. For example, *Brassica* species, soybean and maize appear to be highly diploidised paleopolyploids (see Wendel 2000 and Gaut et al. 2000 for a review). Such events could explain the co-existence within the genus *Dioscorea* of the diploid $2n=40$ *D. rotundata* together with diploid $2n=20$ species such as *D. tokoro* and *D. gracillima* (section *Stenophora*). Our diversity surveys suggest that the wild species *D. abyssinica* and *D. praehensilis* could also be diploid. Research is needed to re-examine the evolutionary scenario of African yams.

Acknowledgements We thank Jacques David, Serge Hamon and Joelle Ronfort for their comments on earlier drafts of the manuscript.

References

- Daïnou O, Agbangla C, Berthaud J, Tostain S (2002) Le nombre chromosomique de base des espèces de *Dioscorea* constituant la section *Enantiophyllum* pourrait être égal à $x=20$. Quelques preuves. *Ann Sci Agron Benin* 3:21-43
- Dakin E-E, Avise J-C (2004) Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93:504-509
- Dansi A, Pillay M, Mignouna H-D, Daïnou O, Mondeil F, Moutairou K (2000) Ploidy level of the cultivated yams (*Dioscorea cayenensis*/*D. rotundata* complex) from Benin republic as determined by chromosome counting and flow cytometry. *Afr Crop Sci J* 8:355-364
- Diwan N, Bouton J-H, Kochert G, Cregan P-B (2000) Mapping of simple sequence repeat (SSR) DNA markers in diploid and tetraploid alfalfa. *Theor Appl Genet* 101:165-172
- Franks T, Botta R, Thomas M-R (2004) Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theor Appl Genet* 104:192-199
- Gamiette F, Bakry F, Ano G (1999) Ploidy determination of some yam species (*Dioscorea* spp.) by flow cytometry and conventional chromosome counting. *Genet Resour Crop Evol* 46:19-27
- Gaut B-S, le Thierry d'Ennequin M, Peek A-S, Sawkins M-C (2000) Maize as a model for the evolution of plant nuclear genomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:7008-7015
- Hahn S-K (1995) Yams *Dioscorea* spp. (Dioscoreaceae). In: Simmonds N-W (ed) *Evolution of crop plants*. Longmans, London, pp 112-119
- Hamon P, Touré B (1982) Etude du polymorphisme enzymatique par électrophorèse sur gel d'amidon de quelques populations d'ignames spontanées et cultivées de Côte d'Ivoire (*Dioscorea* spp.). *Ann Univ Abidjan* 18:99-112
- Hamon P, Brizard J-P, Zoundjihekpon J, Duperray C, Borgel A (1992) Etude des index d'ADN de huit espèces d'ignames (*Dioscorea* sp.) par cytométrie en flux. *Can J Bot* 70:996-1000
- Hamon P, Dumont E, Zoundjihekpon J, Ahoussou N, Tio-Touré B (1997) Les ignames. In: Charrier A, Jacquot M, Hamon S, Nicolas D (eds) *L'amélioration des plantes tropicales*. CIRAD-ORSTOM Repères, Paris, pp 385-400

- Matsuoka Y, Mitchell S-E, Kresovich S, Goodman M, Doebley J (2002) Microsatellites in *Zea*—variability, patterns of mutations, and use for evolutionary studies. *Theor Appl Genet* 104:436–450
- Miege J (1952) Contribution à l'étude systématique des *Dioscorea* d'Afrique occidentale. Thèse de doctorat, Université de Paris, Paris, France, p 266
- Mignouna H-D, Mank R-A, Ellis T-H-N, van den Bosch N, Asiedu R, Ng S-Y-C, Peleman J (2002) A genetic linkage map of Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) based on AFLP markers. *Theor Appl Genet* 105:716–725
- Mignouna H-D, Abang M-M, Fagbemi S-A (2003) A comparative assessment of molecular marker assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterisation. *Ann Appl Biol* 142:269–276
- Miller J-S, Venable D-L (2000) Polyploidy and evolution of gender dimorphism in plants. *Science* 289:2335–2338
- Pannel J-R, Obbard D-J, Buggs R-J-A (2004) Polyploidy and the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*? *Biol J Linn Soc* 82:547–560
- Rottenberg A (2000) Fertility of exceptional bisexual individuals in four dioecious plant species. *Sex Plant Reprod* 12:219–221
- Second G, Trouslot P (1980) Electrophorèse d'enzymes de riz (*Oryza* sp.). Travaux et Documents de l'ORSTOM no. 120. ORSTOM, Paris
- Segarra-Moragues J-G, Palop-Esteban M, Gonzales-Candelas F, Catalan P (2004) Characterization of seven (CTT)_n microsatellite loci in the Pyrenean endemic *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae): remark on ploidy level and hybrid origin assessed through allozymes and microsatellite analyses. *J Hered* 95:177–183
- Terauchi R, Chikaleke V-A, Thottappilly G, Hahn S-K (1992) Origin and phylogeny of Guinea yams as revealed by RFLP analysis of chloroplast DNA and nuclear ribosomal DNA. *Theor Appl Genet* 83:743–751
- Weenden N-F, Wendel J-F (1989) Genetic of plant isozymes. In: Soltis D-E, Soltis P-S (eds) *Isozymes in plant biology*. Dioscorides, Portland, pp 46–72
- Wendel J-F (2000) Genome evolution in polyploids. *Plant Mol Biol* 42:225–249
- Zoundjiekpon J, Essad S, Touré B (1990) Dénombrement chromosomique dans dix groupes variétaux du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata*. *Cytologia* 55:115–120
- Zoundjiekpon J, Hamon S, Tio-Touré B, Hamon P (1994) First controlled progenies checked by isozymic markers in cultivated yams, *Dioscorea cayenensis-rotundata*. *Theor Appl Genet* 88:1011–1016

CHAPITRE II.

ENNOBLISSEMENT ET REPRODUCTION

SEXUEE

Chez l'igname, les compartiments sauvage (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*) et cultivé (*D. rotundata*) sont supposés reliés d'une part par les hybridations interspécifiques, qui introduiraient des individus hybrides dans le compartiment sauvage, d'autre part par la pratique paysanne de l'ennoblissement, qui introduirait des individus sauvages et hybrides dans le compartiment cultivé.

On note dans la littérature une absence d'études sur les capacités de ces espèces à s'hybrider naturellement. De plus, la pratique de l'ennoblissement a déjà été très étudiée d'un point de vue ethnobotanique (Dumont 1998b, Baco 2000, Okry 2000, Houemassou Bossa 2001), mais le peu d'études génétiques réalisées jusqu'à maintenant ne permet pas de confirmer l'intégration de produits de reproduction sexuée dans le compartiment cultivé (Mignouna et Dansi 2003, Tostain et al. 2003a).

Notre but est d'étudier l'existence de ces flux entre les compartiments sauvage et cultivé. Nous verrons d'une part si des hybridations entre les espèces sauvages et cultivée créent de la diversité, puis si les paysans intègrent cette diversité dans le compartiment cultivé *via* l'ennoblissement. Nous cherchons à répondre aux questions suivantes :

1. Les espèces sauvages (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*) s'hybrident-elles spontanément avec l'espèce cultivée *D. rotundata* ? Retrouve-t-on des hybrides interspécifiques dans les populations sauvages ?
2. Quels sont les individus ennoblis par les paysans ? S'agit-il d'individus sauvages (*D. abyssinica* et/ou *D. praehensilis*), d'individus cultivés et/ou hybrides interspécifiques ?
3. La pratique de l'ennoblissement permet-elle réellement aux paysans d'introduire des individus de génotypes originaux dans le pool cultivé ? Et donc, retrouve-t-on des individus de génotype sauvage ou hybride dans le pool cultivé ?

La partie Matériels et Méthodes détaillée est présentée dans la partie suivante. Les parties Résultats et Discussion sont présentées dans deux articles, "Genetic nature of yams (*Dioscorea* sp.) domesticated by farmers in Benin (West Africa)", accepté dans *Genetic Resources and Crop Evolution* et "Farmers' use of sexual reproduction in a vegetatively propagated crop. The case of yam farmers in Benin" (en préparation). Enfin, quelques résultats complémentaires sont présentés à la suite de ces deux articles.

I. Hybridations interspécifiques

Pour déterminer s'il existe des hybrides interspécifiques, nous avons conduit des analyses de paternité sur des descendances d'ignames sauvages et cultivées prélevées dans des populations sympatriques. Le but de cette étude est de déterminer si les pères des descendants sont sauvages ou cultivés et donc si les descendants sont des hybrides intra- ou interspécifiques.

A. Matériel et méthodes

1. Echantillonnage

L'analyse a été menée dans le village de Gorobani, au nord du Bénin (Figure 15), dans la zone de répartition de l'espèce sauvage *D. abyssinica*. Nous avons sélectionné cinq paysans. Dans les champs de ces paysans, nous avons récolté les fruits portés par 7 ignames cultivées femelles, soit 93 graines analysées. Dans les savanes entourant ces champs, nous avons collecté les fruits portés par 7 ignames sauvages femelles (*D. abyssinica*), soit 102 graines analysées. Pour réaliser l'analyse de paternité, nous avons construit deux populations de référence, une sauvage et une cultivée. Dans les champs des cinq paysans, nous avons échantillonné un tubercule par variété cultivée, soit 46 tubercules. Dans les savanes qui entourent ces champs, nous avons prélevé 105 tubercules de l'espèce sauvage *D. abyssinica*. Cet échantillonnage s'est déroulé au cours d'une mission réalisée en décembre 2002.

Les tubercules ont été mis à germer en serre et l'ADN a été extrait à partir de l'apex des jeunes tiges. L'ADN des descendances a été extrait à partir de graines non germées. Tous ces individus ont été génotypés avec 11 microsatellites (1A01, 1C12, 1F08, 2C05, 2D06, 2D08, 2E07, 2E09, 3B12, 3F04 et 3G04 Tostain et al. 2005).

2. Analyses de paternité

a. Utilisation des logiciels existants

Les tests de paternité ont été réalisés avec les logiciels CERVUS 2.0 (Marshall et al. 1998) et FAMOZ (Gerber et al. 2003). CERVUS utilise les génotypes multilocus d'un individu et des pères potentiels pour déterminer quel est le père le plus probable de cet individu. Ce logiciel utilise un rapport de vraisemblance pour déterminer s'il est plus vraisemblable qu'un père potentiel ait transmis ses allèles à l'individu qu'un père arbitraire. Le rapport de vraisemblance se calcule à partir des fréquences alléliques de la population de pères potentiels et suppose que l'équilibre d'Hardy-Weinberg soit respecté et que les locus soient indépendants. Le principe du logiciel FAMOZ est similaire mais le rapport de vraisemblance détermine s'il est plus vraisemblable qu'un père potentiel ait transmis ses allèles à l'individu qu'un père non génotypé.

Sur les 195 descendants analysés (93 descendants de mères cultivées et 102 descendants de mères sauvages), les pères de seulement 2 individus ont pu être assignés avec les deux logiciels.

Ces résultats indiquent que les pères de nos descendants n'ont pas été échantillonnés, ce qui est pourtant indispensable pour effectuer des tests de paternité. Cependant, la question qui nous intéresse n'est pas de savoir quel est le père des descendants mais à quelle espèce appartient ce père. Nous avons donc adapté la méthode utilisée dans CERVUS afin de répondre à nos objectifs.

b. Développement d'une nouvelle méthode

Nous disposons des génotypes multilocus de descendants ainsi que de leurs mères. Nous disposons également des génotypes d'individus provenant d'une population sauvage et d'une population cultivée. Notre but est de savoir si les pères des descendants proviennent de la population cultivée ou sauvage. Pour cela, nous avons développé un test basé sur un rapport de vraisemblance. Ce rapport nous permet de déterminer s'il est plus vraisemblable que le père d'un individu soit sauvage plutôt que cultivé. Le principe du test est expliqué ci-dessous :

Soit deux populations 1 et 2. Soit g_o et g_m les génotypes d'un descendant et de sa mère, appartenant à la population 1 ou 2. Considérons les deux hypothèses H_1 : le parent mâle provient de la population 1, et H_2 : le parent mâle provient de la population 2. La vraisemblance de l'hypothèse 1 par rapport à l'hypothèse 2 est un rapport de vraisemblance noté :

$$(1) \quad L(H_1, H_2 | g_o, g_m) = \frac{P_1(g_o | g_m, H_1)}{P_2(g_o | g_m, H_2)}$$

Où $P_1(g_o | g_m, H_1)$ est la probabilité d'observer le génotype du descendant (g_o) sachant le génotype de sa mère (g_m) et en supposant que le parent mâle vienne de la population 1 (H_1).

Les rapports de vraisemblance pour toutes les mères et leurs descendants compatibles sont indiqués dans le Tableau II-1.

En supposant que les k locus sont indépendants, un LOD score est calculé selon :

$$(2) \quad LOD = \sum_k \ln [L_k(H_1, H_2 | g_o, g_m)]$$

Tous les allèles présents dans les populations 1, 2, chez les descendants et leurs mères sont comptabilisés. Leurs fréquences sont calculées pour la population cultivée puis pour la population sauvage.

L'existence d'allèles de fréquence nulle dans une population (cas d'un allèle présent dans une seule population) ou deux populations (cas d'un allèle présent uniquement chez les descendants) pose problème. En effet, dans ce cas, le résultat de l'équation 1 n'existe pas et le LOD score (équation 2) ne peut pas se calculer. Nous avons donc modifié les fréquences alléliques qui servent à calculer le LOD score. Cette modification s'est faite en deux étapes :

Etape 1. Cas des allèles présents dans une seule population ($f(\text{allèle})_1=0$ ou $f(\text{allèle})_2=0$)

a. Nous avons calculé pour chaque population un seuil S correspondant à la fréquence maximum d'un allèle présent dans une population mais non échantillonné à 5%. Ce seuil dépend de la taille de la population.

Génotype du descendant (g_o)	Génotype de la mère (g_m)	$P_1(g_o g_m, H_1)$	$P_2(g_o g_m, H_2)$	$L(H_1, H_2 g_o, g_m)$
BB	BB	b1	b2	b1/b2
BB	BX	b1/2	b2/2	b1/b2
BC	CC	b1	b2	b1/b2
BC	CX	b1/2	b2/2	b1/b2
BC	BC	(b1+c1)/2	(b2+c2)/2	(b1+c1)/(b2+c2)

Tableau II-1. Calcul de la vraisemblance d'un gamète de venir d'une population.

Les rapports de vraisemblance (L) de l'hypothèse H_1 'le père du descendant appartient à la population 1' par rapport à l'hypothèse H_2 'le père du descendant appartient à la population 2' sont calculés à partir des fréquences alléliques dans les populations 1 et 2. B et C sont deux allèles co-dominants et X n'importe quel allèle excepté B et C. La fréquence des allèles B et C dans la population 1 (ou 2) est b1 et c1 (ou b2 et c2).

Les x allèles dont les fréquences sont inférieures au seuil dans les deux populations ($f(\text{allèle})_1 < S_1$ et $f(\text{allèle})_2 < S_2$) sont regroupés pour former un allèle synthétique. La fréquence de cet allèle synthétique dans chacune des deux populations est égale à la somme des fréquences des x allèles regroupés ($f(\text{allèle synthétique})_1 = \sum f(\text{allèle}_x)_1$ et $f(\text{allèle synthétique})_2 = \sum f(\text{allèle}_x)_2$).

b. Si un allèle (dont l'allèle synthétique) est absent d'une population et en fréquence inférieure au seuil dans l'autre population (par exemple, $f(\text{allèle})_1 = 0$ et $f(\text{allèle})_2 < S_2$), la fréquence dans la première population est considérée comme égale à la fréquence dans la deuxième population (par exemple $f(\text{allèle})_1 = f(\text{allèle})_2 < S_2$). Dans ce cas, le rapport de vraisemblance (équation 1) est égal à 1 et cet allèle n'a pas de conséquence sur le calcul du LOD score. On considère en effet que cet allèle est présent en trop faible fréquence pour que son absence dans une des deux populations représente une réelle différence entre les deux populations.

c. Si un allèle (dont l'allèle synthétique) est absent d'une population et en fréquence supérieure au seuil dans l'autre population (par exemple, $f(\text{allèle})_1 = 0$ et $f(\text{allèle})_2 > S_2$), la fréquence dans la première population est considérée comme égale au seuil de la première population (par exemple $f(\text{allèle})_1 = S_1$ et $f(\text{allèle})_2 > S_2$). Dans ce cas, l'allèle participe au calcul du LOD score. On considère en effet que cet allèle est présent en fréquence suffisamment forte dans une des populations pour que son absence dans l'autre population reflète une réelle différence entre les populations.

d. Toutes les fréquences alléliques sont réajustées dans chacune des populations pour que leur somme fasse 1.

Etape 2. Cas des allèles absents des deux populations ($f(\text{allèle})_1 = 0$ et $f(\text{allèle})_2 = 0$)

Il s'agit des allèles présents uniquement chez les descendants. Dans ce cas l'allèle n'est pas informatif puisqu'il ne permet pas de faire d'inférence sur sa population d'origine. On considère alors que les fréquences de ces allèles dans les deux populations valent 1. Dans ce cas, le rapport de vraisemblance (équation 1) vaut 1 et ces allèles ne participent pas au calcul du LOD score.

Un LOD score est calculé pour chaque descendant génotypé à partir des fréquences alléliques modifiées et selon les équations 1 et 2. L'assignation du parent mâle à l'une des deux populations à partir du LOD score se fait ensuite grâce à la simulation.

Pour chaque mère, on simule des descendants sachant que le père appartient à la population 1 ou 2, afin de calculer la courbe de distribution des LOD scores sachant la population dont proviennent le père et la mère. Pour chaque mère, des descendants simulés sont construits à partir d'un échantillonnage mendélien des allèles de la mère et d'un allèle sélectionné au hasard à partir d'un génotype choisi au hasard dans la population 1 ou 2. Un LOD score est calculé pour chaque descendant simulé comme expliqué précédemment (équations 1 et 2, en utilisant les fréquences alléliques modifiées). Une courbe de distribution des LOD scores est ensuite construite à partir de 10 000 descendants simulés par population. Ces courbes de distribution sont spécifiques à la mère à partir de laquelle les génotypes des descendants sont simulés. On construit donc autant de courbes que de mères.

Les LOD scores obtenus pour les vrais descendants génotypés sont comparés aux distributions de LOD scores obtenues pour leurs mères. La probabilité qu'un parent mâle provienne de la population i est obtenue en calculant la proportion de parents simulés présentant un LOD score plus faible. On obtient ainsi deux probabilités, la probabilité que le parent mâle provienne de la population 1 et la probabilité que le parent mâle provienne de la population 2. Un parent mâle est assigné à une population si sa probabilité de provenir de cette population est $0,025 < p < 0,975$ et si le LOD score obtenu ne se situe pas dans la zone de chevauchement des deux courbes de distribution. Un parent mâle rejeté des deux populations est considéré comme non assigné.

Une deuxième méthode de simulation consiste à construire les génotypes des descendants à partir d'un échantillonnage mendélien des allèles de la mère et à partir d'un échantillonnage aléatoire des allèles présents dans la population 1 ou 2. Dans ce cas l'échantillonnage se fait en considérant les fréquences alléliques non modifiées. Cette méthode suppose de respecter l'équilibre de Hardy-Weinberg. En pratique, les résultats donnent des résultats très similaires : les probabilités que le père des descendants appartienne à chaque population sont peu différentes et les assignations sont identiques.

Deux étapes du programme ont été testées :

- Nous nous sommes assurés que la création des individus simulés, utilisés pour générer les courbes de distribution des LOD score, respecte bien les fréquences alléliques des populations sauvages et cultivées. Pour cela, nous avons généré 1000 individus par mère. Dans un premier temps, les individus sont créés à partir d'un allèle maternel et d'un allèle d'individu tiré au hasard dans la population sauvage (soit 14000 individus) et cultivée (soit 14000 individus). Nous avons ensuite créé les individus à partir d'un allèle maternel et d'un allèle tiré au hasard dans la population sauvage (soit 14000 individus) et cultivée (soit 14000 individus). Que la création des individus se fasse à partir d'un individu tiré au hasard ou des fréquences alléliques, les fréquences alléliques obtenues pour l'ensemble des descendants simulés sont identiques aux fréquences alléliques des populations sauvage et cultivée.

- Nous nous sommes assurés que la méthode utilisée permet une assignation correcte du parent mâle d'un individu. Pour cela, nous avons généré des individus à partir d'un allèle maternel et d'un allèle d'un individu tiré au hasard dans la population sauvage (soit 1000 individus), puis dans population cultivée (soit 1000 individus). Chaque individu est ensuite assigné en utilisant le programme décrit ci-dessus. Les résultats nous montrent que 95,9% des individus ayant un père sauvage ont un parent mâle assigné à la population sauvage. Les individus restants sont non assignés : 2,4% ont un $p(\text{gamète}=\text{sauvage}) > 0,975$ et 1,7% ont un $p(\text{gamète}=\text{sauvage}) < 0,025$. Ces valeurs ne sont pas différentes des valeurs attendues (test du Khi2, $p=0,11$). 95,6% des individus ayant un père cultivé ont un parent mâle assigné à la population cultivé. Les individus restants sont non assignés : 2,6% ont un $p(\text{gamète}=\text{cultivé}) > 0,975$ et 1,8% ont un $p(\text{gamète}=\text{cultivé}) < 0,025$. Ces valeurs ne sont pas différentes des valeurs attendues (test du Khi2, $p=0,16$). Les 5% de parents non assignés obtenus correspondent aux 5% de parents non assignés attendus par chance. Les parents sont tous correctement assignés. De plus, les moyennes des probabilités obtenues pour les individus ayant un père sauvage et pour ceux ayant un père cultivé ne sont pas différentes de 0,5 (test du Khi2, $p=0,33$). Le programme permet donc une assignation correcte des parents mâles.

B. Résultats

Les résultats sont présentés dans un projet d'article "Farmers' use of sexual reproduction in a vegetatively propagated crop. The case of yam farmers in Benin". Cet article est présenté à la fin du chapitre.

II. Ennoblement et création variétale

Pour déterminer si l'ennoblement permet aux paysans d'introduire des génotypes nouveaux dans le pool cultivé, nous avons analysé la diversité génétique d'ignames sauvages (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*), cultivées (*D. rotundata*) et pré-ennoblies. Nous avons cherché à déterminer à quelle espèce appartiennent les individus pré-ennoblis ou, le cas échéant, s'il s'agit d'hybrides interspécifiques. Puis nous avons recherché l'existence de génotypes sauvages et hybrides interspécifiques dans le pool cultivé.

A. Matériel et méthodes

1. Echantillonnage

La première analyse a été réalisée avec des AFLP pour obtenir une vision globale du processus d'ennoblement. Cependant, les AFLP se sont révélés trop peu informatifs pour mettre en évidence l'existence d'individus hybrides et pour réaliser des assignations. Nous avons donc réalisé une seconde analyse avec des microsatellites nucléaires dès que ceux-ci ont été développés (Tostain et al. 2005).

Les effectifs analysés avec les marqueurs AFLP et microsatellites sont un peu différents puisque, pour certains individus, l'analyse AFLP a consommé tout l'ADN disponible. Les individus analysés avec les microsatellites correspondent donc à un sous-échantillonnage des individus analysés par AFLP. Nous indiquerons ici uniquement les effectifs utilisés dans l'analyse avec les microsatellites.

Cette étude a été menée à deux échelles différentes. Nous avons analysé le processus d'ennoblement dans un seul village du nord du Bénin et de façon plus globale au niveau du Bénin en entier. Cette double échelle nous permet dans un premier temps, d'assigner des individus pré-ennoblis dans les populations sauvages et cultivées locales. Nous espérons ainsi augmenter le pouvoir de l'assignation. Dans un second temps, l'analyse au niveau du Bénin

permet de généraliser ou non les conclusions obtenues dans un seul village. Cette fois, les individus pré-ennoblis ne sont pas assignés à des populations sauvages et cultivées locales. L'assignation risque donc d'être moins puissante s'il s'avère que la diversité génétique des espèces sauvages et cultivées est structurée géographiquement.

La première analyse s'est faite dans le village de Gorobani du nord du Bénin. Une étude conduite par Baco (2000) a permis de repérer les paysans pratiquant l'ennoblissement. Seuls 6 paysans parmi les quelques 350 paysans du village pratiquent encore aujourd'hui l'ennoblissement. Cinq paysans ont été sélectionnés. Ces cinq paysans sont les mêmes que ceux sélectionnés pour réaliser l'échantillonnage de l'analyse des hybridations interspécifiques. L'échantillonnage des individus sauvages et cultivés est le même, c'est-à-dire 105 tubercules sauvages (*D. abyssinica*) et 46 cultivés (*D. rotundata*). Nous avons aussi prélevé 9 tubercules pré-ennoblis dans les champs de ces cinq paysans. Deux variétés parmi celles collectées sont décrites par les paysans comme directement issues de l'ennoblissement de *D. abyssinica*. Les tubercules ont été mis à germer en serre et l'ADN a été extrait à partir de l'apex des jeunes tiges. Les individus ont été génotypés avec 11 marqueurs microsatellites (1A01, 1C12, 1F08, 2C05, 2D06, 2D08, 2E07, 2E09, 3B12, 3F04 et 3G04 Tostain et al. 2005).

La seconde analyse s'est faite dans huit villages répartis dans le nord, le centre et le sud du Bénin. Au nord, nous avons travaillé dans les villages de Gorobani, Guessou Bani, Wari et Yarra, au centre dans les villages d'Assaba et Djagballo et au sud dans les villages de Gounoukouin et Amakpa (Figure II-1). Tous ces villages ont, au préalable, fait l'objet d'enquêtes sur la pratique de l'ennoblissement (Baco 2000, Okry 2000 et Houemassou Bossa 2001). Ces études nous ont permis de sélectionner les paysans pratiquant l'ennoblissement. Trente tubercules pré-ennoblis ont ainsi pu être collectés. Au total, 55 tubercules de l'espèce cultivée *D. rotundata* ont été collectés dans l'ensemble des huit villages. Les variétés collectées sont représentatives des variétés les plus cultivées au Bénin (Dansie et al. 1999). A cet échantillonnage, s'ajoutent 10 tubercules de la variété Gban prélevés dans 6 villages différents du département de l'Atlantique (Figure II-1). Selon les dires paysans, cette variété, cultivée uniquement dans cette région, provient directement de l'ennoblissement de l'espèce sauvage *D. praehensilis*. Les individus sauvages ont été collectés de sorte à couvrir au mieux l'aire de répartition des espèces *D. abyssinica* et *D. praehensilis* (Hamon et al. 1995, Figure II-2). 71 *D. abyssinica* et 33 *D. praehensilis* ont été échantillonnés. Cet échantillonnage a été

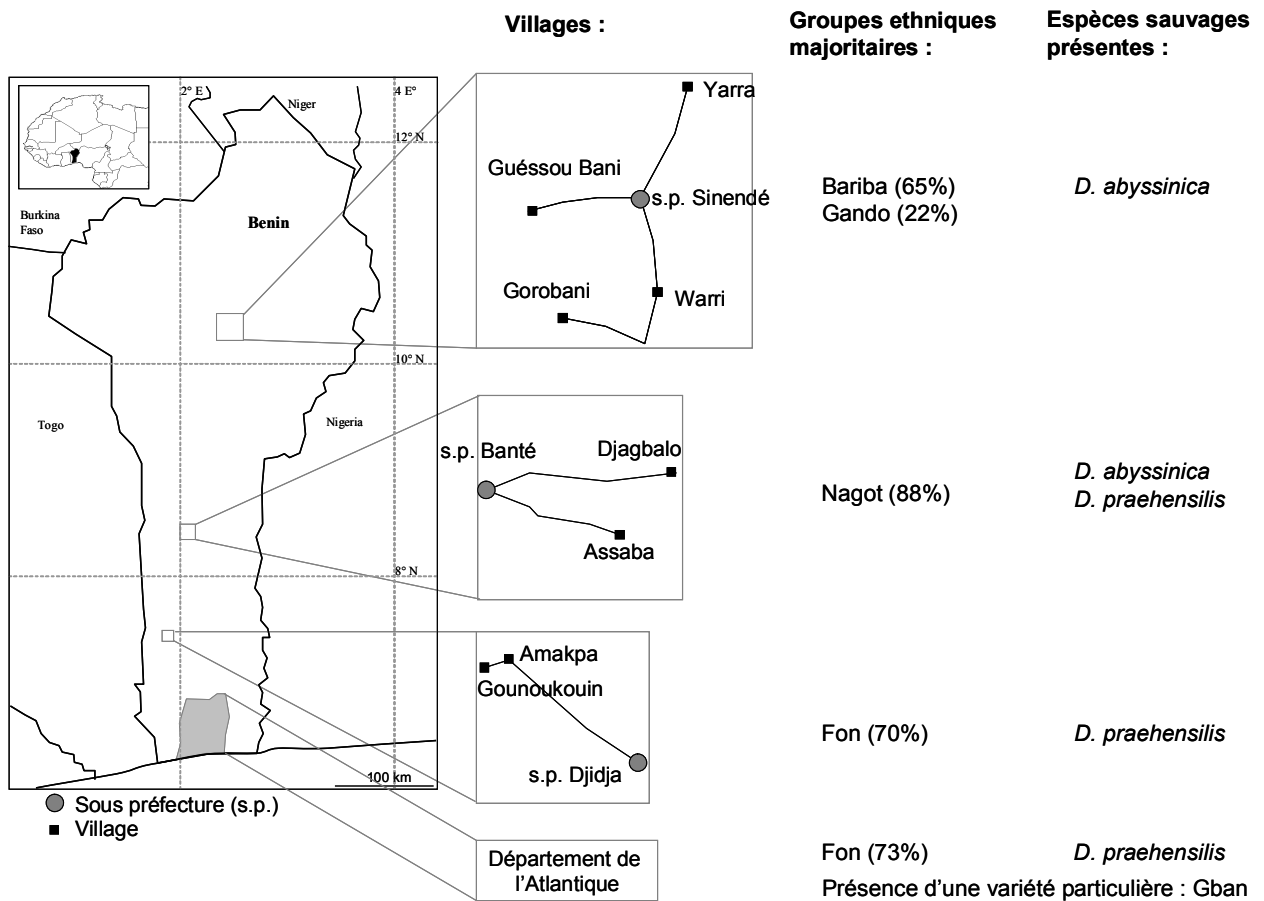


Figure II-1. Zones de collecte des individus cultivés et pré-ennoblis.

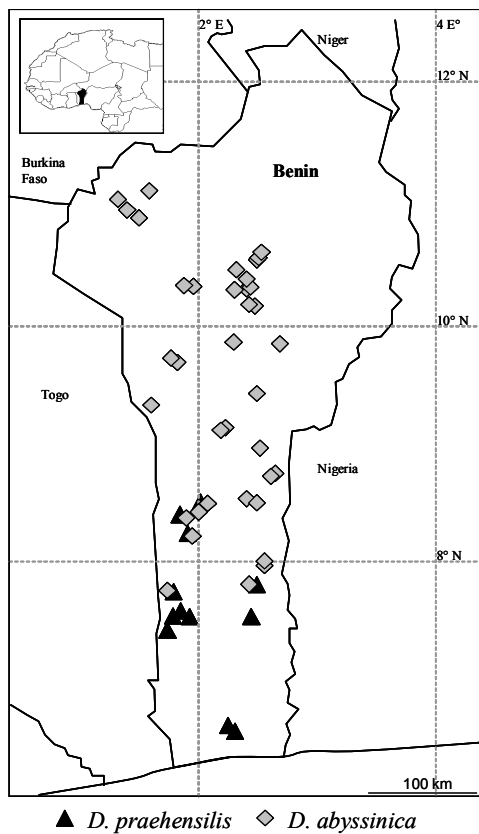


Figure II-2. Positions géographiques des individus sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis* collectés pour l'analyse de l'ennoblissement au niveau national.

réalisé entre 1996 et 2001 par S. Tostain en collaboration avec le laboratoire de Génétique de Cotonou.

Les tubercules ont été mis à germer en serre et l'ADN a été extrait à partir de l'apex des jeunes tiges. Dans un premier temps, ces individus ont été analysés avec quatre couples d'AFLP (E-ACA/T-CTC, E-ACT/T-CTC, E-ACA/T-CTT et E-AGC/T-CTT). Puis ils ont été analysés avec 11 marqueurs microsatellites (1A01, 1C12, 1F08, 2C05, 2D06, 2D08, 2E07, 2E09, 3B12, 3F04 et 3G04, Tostain et al. 2005).

2. Analyses génétiques des données AFLP

L'analyse des résultats obtenus avec les AFLP nous a servi à explorer la diversité génétique des espèces sauvages et cultivée. Elle nous a aussi servi à nous faire une première idée de l'origine des individus pré-ennoblis. Pour cela, deux types de classifications ont été utilisées : l'analyse en composantes principales (ACP) et la représentation sous forme d'arbre.

Les méthodes factorielles comme l'ACP ont pour objectif de repérer des structures fortes dans une population en se débarrassant le plus possible des effets individuels (Perrier et al. 1999). Le but des analyses factorielles est de ramener les n dimensions d'un nuage de points à quelques axes indépendants expliquant un maximum de l'inertie du nuage de points.

Une ACP a été réalisée sur l'ensemble des individus sauvages et cultivés avec le logiciel STATISTICA 6 (StatSoft 2001). Les individus pré-ennoblis sont projetés en tant que points supplémentaires, ils ne participent donc pas à la définition des axes. L'origine de ces individus est déduite graphiquement à partir du nuage de points obtenu sur les deux premières dimensions, celles expliquant le plus de variance.

Les représentations sous forme d'arbres cherchent à représenter au mieux les relations individuelles. Elles se basent sur une matrice de distances génétiques individuelles.

Nous avons réalisé un arbre selon la méthode du Neighbor-joining (Saitou et Nei 1987) à partir de la matrice de distance génétique calculée selon la Shared Allele distance (Dsa, Chakraborty et Jin 1993). Dans cet arbre, tous les individus sauvages, cultivés et pré-ennoblis ont été inclus.

Ces deux méthodes de classification présentent plusieurs inconvénients. Tout d'abord, les résultats sont très dépendants de la distance et du type de représentation choisis. De plus,

l'assignation se base sur des groupes définis graphiquement. Ces groupes sont subjectifs et dépendent de la fiabilité de la classification réalisée sur le terrain. S'il existe des individus mal classés ou intermédiaires la définition de ces groupes sera imprécise. L'absence de données statistiques nous empêche de savoir quelle confiance apporter aux résultats. Malgré tout, ces méthodes de classification nous permettent d'avoir une première image de la diversité des ignames sauvages et cultivées ainsi que de l'origine des individus pré-ennoblis.

3. Analyses génétiques des données microsatellites

a. F-statistiques

Définies par Wright (1951), les F-statistiques permettent de décrire l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg observable pour des sous-populations reliées par la migration selon un modèle en île. Nei (1977) décrit les trois statistiques F_{st} , F_{is} et F_{it} à partir des hétérozygoties attendues et observées :

$$F_{st} = \frac{H_t - H_s}{H_t} \quad F_{is} = \frac{H_s - H_o}{H_s} \quad F_{it} = \frac{H_t - H_o}{H_t}$$

avec :

H_t , hétérozygotie attendue dans la population totale sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg.

H_s , hétérozygotie attendue dans la sous-population sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg.

H_o , hétérozygotie observée dans la population totale.

Le F_{it} mesure l'écart global à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

Le F_{is} mesure l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg dans les sous-populations. Un F_{is} positif traduit un excès d'homozygotes et une valeur négative un déficit en homozygotes. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce résultat, notamment l'existence d'un régime de reproduction ouvert ou fermé. Cependant un F_{is} positif peut aussi s'expliquer par une mauvaise connaissance de la structure populationnelle, appelé effet Wahlund. En effet, si deux sous-populations panmictiques dont les fréquences alléliques sont différentes sont considérées et analysées comme une seule population, on observe globalement un excès d'homozygotes. Pour notre analyse, les F_{is} et leur significativité (test exact) ont été calculés pour chaque espèce avec le logiciel GENEPOP 3.4 (Raymond et Rousset 1995).

Le F_{st} mesure l'écart à Hardy-Weinberg dû à la différenciation entre sous-populations. Le F_{st} est couramment utilisé pour déterminer s'il existe des flux de gènes entre des populations. En effet, plus la valeur du F_{st} est élevée, moins il y a d'échange entre les populations. Weir et Cokerham (1984) donnent un nouvel estimateur du F_{st} :

$$F_{st} = \frac{\theta_2 - \theta_3}{1 - \theta_3}$$

avec θ_2 , la probabilité d'identité de deux allèles à l'intérieur d'une sous-population et θ_3 , la probabilité d'identité de deux allèles entre des sous-populations différentes.

Cet estimateur est calculé par une analyse de variance réalisée sur les fréquences alléliques des différentes sous-populations (Weir 1996). Cet estimateur permet donc de mesurer la différence entre les fréquences alléliques des sous-populations.

Plus tard, Slatkin (1995) a défini un équivalent du F_{st} adapté aux particularités des marqueurs microsatellites, le R_{st} . Alors que le F_{st} est basé sur des différences de fréquences alléliques, le R_{st} est basé sur des différences de tailles alléliques :

$$R_{st} = \frac{S - S_w}{S}$$

avec S , la moyenne des différences au carré des tailles alléliques entre les paires d'allèles et S_w , la moyenne de la somme des différences au carré des tailles alléliques entre chaque sous-population.

Le calcul du R_{st} est basé sur l'hypothèse que les microsatellites mutent selon un modèle SMM (stepwise mutation model). Sous ce modèle, chaque mutation crée un nouvel allèle par addition ou délétion d'une seule unité de répétition. Dans ce cas, la distance entre deux allèles est directement corrélée avec la taille de ces allèles : plus les allèles sont différents, plus la distance entre ces allèles est grande.

De nombreux auteurs ont étudié les caractéristiques des F_{st} et R_{st} (revue dans Balloux et Lugon-Moulin 2002 et Estoup et al. 2002). Il en ressort que le F_{st} est une statistique très dépendante du taux de mutation, surtout si le taux de migration est faible. Il aura tendance à sous-estimer la différenciation entre des populations très structurées. Le R_{st} est lui indépendant du taux de mutation, à condition que le modèle SMM soit respecté, mais ce modèle n'explique pas parfaitement les patrons de mutation observés. De plus, le modèle

SMM n'implique pas de contrainte de taille, or il semble que la taille des microsatellites soit effectivement contrainte. Dans ce cas, la corrélation taille/distance est faussée et le R_{st} s'avère moins performant que le F_{st} . Enfin, le R_{st} présente une forte variance. Pour Rousset (2000), l'utilisation des F_{st} donne toujours de meilleurs résultats que celle des R_{st} . Nous avons donc choisi d'utiliser les F_{st} plutôt que les R_{st} même si nous travaillons avec des microsatellites. Pour notre analyse, les F_{st} entre chaque espèce ont été estimés selon la méthode de Weir et Cokerham (1984) et leurs significativités ont été testées (G test) avec le logiciel FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 2002).

b. Tests d'assignation

Trois types de méthodes sont utilisables pour assigner des individus à des populations, les méthodes basées sur les distances génétiques, sur les fréquences alléliques et les méthodes bayésiennes.

Méthode basée sur les distances génétiques

L'assignation par la méthode des distances consiste à calculer une distance génétique entre l'individu à assigner et chaque population candidate. L'individu est assigné à la population dont il est génétiquement le plus proche.

Le principal avantage de cette méthode est qu'il n'est pas nécessaire que l'équilibre de Hardy-Weinberg soit respecté et que les locus soient indépendants. Elle est cependant très dépendante de la distance génétique choisie. Cornuet et al. (1999) ont testé l'efficacité de différentes distances sur un jeu de données simulées. En considérant 10 populations de 90 individus, divergeant de 200 générations, l'assignation basée sur 20 locus suivant un modèle de mutation SMM montre que 35% des individus sont correctement assignés avec la distance de Goldstein et al. (1995) contre 80% avec la distance de Cavalli-Sforza et Edward (1967).

Les assignations basées sur les distances sont réalisables avec le logiciel GENECLASS2 (Piry et al. 2004).

Méthode basée sur les fréquences

Cette méthode, développée par Paetkau et al. (1995), consiste à assigner un individu dans la population dans laquelle le génotype de cet individu est le plus probable. La vraisemblance que le génotype de l'individu provienne de chaque population candidate est calculée à partir des fréquences alléliques de ces populations.

Cette méthode suppose que l'équilibre de Hardy-Weinberg soit respecté dans les populations candidates et que les locus soient indépendants. Il est aussi nécessaire que l'échantillonnage permette une estimation correcte des fréquences alléliques. De plus, cette méthode suppose que tous les allèles de l'individu soient présents dans la population candidate sans quoi l'individu sera systématiquement rejeté de la population. L'existence d'allèles rares ou d'effet d'échantillonnage peut donc fausser les résultats. Pour pallier ce problème, Paetkau et al. (1995) et Cornuet et al. (1999) proposent soit d'ajouter systématiquement l'individu à la population candidate pour le calcul des fréquences alléliques, soit de remplacer chaque fréquence nulle par une valeur faible.

Ce type d'assignation est réalisable avec le logiciel GENECLASS2 (Piry et al. 2004).

Méthodes bayésiennes

Les méthodes bayésiennes permettent de réaliser des inférences à partir de modèles complexes dont les paramètres sont interdépendants (Beaumont et Rannala 2004). Elles reposent sur le théorème de Bayes :

$$P(B|A) = P(B) P(A|B) / P(A)$$

où $P(A)$ est la probabilité de A et $P(A|B)$ est la probabilité d'observer A sachant B.

Si on considère des données (D) et des paramètres (Φ) associés à ces données, on a :

$$P(\Phi|D) = P(\Phi) P(D|\Phi) / P(D)$$

$P(\Phi)$, appelé Prior, et $P(D|\Phi)$, appelé Vraisemblance (des données par rapport aux paramètres), sont définis *a priori* à partir des connaissances acquises sur le modèle biologique. Les méthodes bayésiennes permettent d'estimer la probabilité $P(\Phi|D)$, appelée Posterior, des paramètres Φ au vu des données D obtenues.

Dans le cas d'un test d'assignation, il s'agit de calculer la probabilité qu'un génotype soit résident ou immigrant sachant les fréquences alléliques dans différentes populations et le taux de migration. Un exemple numérique est donné dans l'Encadré I.

Encadré I

Exemple d'assignation à partir d'une méthode bayésienne.

L'exemple donné est tiré de Beaumont et Rannala (2004).

	Prior $P(\Phi)$	Vraisemblance $P(D \Phi)$	$P(\Phi) \times P(D \Phi)$	Posterior $P(\Phi D)$
Immigrant	0,1	0,01	0,001	0,0012
Résident	0,9	0,95	0,855	0,9988
Total	1		$P(D) : 0,856$	1

Soit une population d'individus haploïdes dans laquelle on trouve des individus résidents et des individus provenant d'une autre population par immigration. Les informations obtenues par l'analyse de cette population nous permettent de penser que la probabilité de tirer au hasard un individu immigrant est de 0,1. Cette valeur correspond au Prior $P(\Phi)$. Deux allèles, A et B, existent dans cette population. Seul l'allèle A est traité dans cet exemple. Toujours d'après nos connaissances sur la population, il semble que la vraisemblance d'un allèle A d'appartenir à un individu résident est de 0,95 et celle d'appartenir à un individu immigrant est 0,01. Ces valeurs correspondent à la Vraisemblance $P(D|\Phi)$. En multipliant la valeur du Prior par la valeur de la Vraisemblance, on obtient la probabilité d'observer un immigrant ou un résident avec l'allèle A. La somme de ces valeurs nous donne la probabilité $P(D)$ d'observer un allèle A dans la population, indépendamment du statut immigrant ou résident. Enfin, en divisant les valeurs de $P(\Phi) \times P(D|\Phi)$ par $P(D)$, c'est-à-dire en rajustant les valeurs pour que leur somme fasse 1, on obtient le Posterior $P(\Phi|D)$. Cette valeur correspond à la probabilité qu'un individu de génotype A soit immigrant ou résident.

Le principal avantage des méthodes bayésiennes est de pouvoir traiter des variables interdépendantes avec un temps de calcul inférieur à des méthodes telles que le maximum de vraisemblance. Ces méthodes ont souvent été décriées en raison de la part de subjectivité qu'elles imposent dans le choix de la probabilité du Prior (Shoemaker et al. 1999).

Il existe différents tests d'assignation basés sur les méthodes bayésiennes. La méthode décrite par Rannala et Mountain (1997) est réalisable dans le logiciel GENECLASS2. Cependant, la méthode la plus utilisée est celle réalisable avec le logiciel STRUCTURE 2.0 (Pritchard et al. 2000). Cette méthode combine l'inférence de structures populationnelles et l'assignation d'individus. Elle considère que toutes les populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg et que les locus sont indépendants à l'intérieur des populations. Le logiciel cherche à construire des populations respectant Hardy-Weinberg et l'indépendance des locus tout en calculant pour chaque individu le pourcentage de son génome qui provient de chaque population.

Choix des méthodes d'assignation utilisées

Cornuet et al. (1999) montrent sur un jeu de données simulées que la méthode d'assignation bayésienne de Rannala et Mountain (1997) donne de meilleurs résultats que la méthode basée sur les fréquences de Paetkau et al. (1995), elle-même étant plus performante que les méthodes basées sur les distances, et ce quelque soit la distance testée. Cependant, les données simulées respectent les deux conditions sur lesquelles sont basées les méthodes par fréquences et bayésiennes, à savoir l'équilibre de Hardy-Weinberg et l'indépendance des locus. La plupart des jeux de données réelles analysés ne respectent pas forcément ces deux conditions. Pourtant, Cornuet et al. (1999) indiquent qu'en introduisant un excès d'homozygotes dans les données simulées, les méthodes basées sur les fréquences et les méthodes bayésiennes sont toujours plus performantes que les méthodes basées sur les distances.

Nous avons donc choisi d'utiliser la méthode d'assignation bayésienne du logiciel STRUCTURE pour déterminer la population d'origine des individus pré-ennoblis. Cependant, pour s'assurer de la robustesse de nos assignations, elles ont aussi été réalisées avec la méthode des fréquences de Paetkau et al. (1995) et avec la distance de Cavalli-Sforza et Edwards (1967) grâce au logiciel GENECLASS2. Cette distance est celle qui donne les meilleures assignations selon Cornuet et al. (1999).

Le logiciel STRUCTURE a été développé pour travailler avec des marqueurs co-dominants. Il est utilisable avec des marqueurs dominants mais dans ce cas chaque individu doit être traité comme haploïde, c'est-à-dire avec un allèle et une donnée manquante à chaque locus. Selon Pritchard et Wen (2003), l'utilisation de ces marqueurs n'est pas correcte vis-à-vis du modèle implémenté. Cependant, il leur semble raisonnable de penser que les résultats sont peu biaisés, particulièrement si le nombre de locus est important. Nous avons réalisé les assignations avec les données AFLP, mais uniquement à titre de comparaison.

B. Résultats

Les principaux résultats sont présentés dans deux articles. "Genetic nature of yams (*Dioscorea* sp.) domesticated by farmers in Benin (West Africa)", accepté dans *Genetic Resources and Crop Evolution*, correspond à l'analyse des données AFLP. "Farmers' use of sexual reproduction in a vegetatively propagated crop. The case of yam farmers in Benin" (en préparation), correspond à l'analyse des données microsatellites. Enfin, la comparaison des assignations obtenues par différentes méthodes (distance, fréquence, Bayésienne) et avec les deux types de marqueurs (AFLP, microsatellites) est présentée dans le chapitre "Résultats complémentaires" suivant ces deux articles.

Article II : Genetic nature of yams (*Dioscorea* sp.) domesticated by farmers in Benin (West Africa)

Nora SCARCELLI, Serge TOSTAIN, Cédric MARIAC, Clément AGBANGLA, Ogoubi
DAÏNOU, Julien BERTHAUD et Jean-Louis PHAM

accepté dans *Genetic Resources and Crop Evolution*



1 Genetic nature of yams (*Dioscorea* sp.) domesticated by farmers 2 in Benin (West Africa)

3 Nora Scarcelli^{1,*}, Serge Tostain¹, Cédric Mariac¹, Clément Agbangla², Ogoubi Daïnou²,
4 Julien Berthaud¹ and Jean-Louis Pham¹

5 ¹Equipe DYNADIV, UMR 1097 Diversité et Génomes des Plantes Cultivées, Institut de Recherche pour le
6 Développement (IRD), BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5, France; ²Laboratoire de Génétique,
7 FAST-Université d'Abomey-Calavi, BP 526 Cotonou, Bénin; * Author for correspondence (e-mail:
8 nora.scarcelli@mpl.ird.fr; phone: 33-0-467416245; fax: 33-0-464416222)

9 Received 22 December 2003; accepted in revised form 23 July 2004

10 **Key words:** AFLP, Benin, *Dioscorea* sp., Farmers' practices, Genetic diversity, Spontaneous yam

11 Abstract

12 'Domestication' is a traditional farmers' practice reported for yams (*Dioscorea* sp.) in Benin (West Africa).
13 It involves introducing 'spontaneous' (naturally occurring) yams, supposedly wild (*D. abyssinica* and
14 *D. praehensilis*), in varieties of the *D. cayenensis*-*D. rotundata* cultivated species complex. In this study, we
15 established the genetic nature of 'predomesticated' yam plants using the amplified fragment length poly-
16 morphism (AFLP) technique. A total of 213 accessions, consisting of 32 predomesticated yams, 70
17 *D. cayenensis*-*D. rotundata*, 86 *D. abyssinica* and 25 *D. praehensilis* yams were analysed. Using 91 AFLP
18 markers, three groups of accessions were distinguished, broadly corresponding to the above botanical
19 species. Of the 32 predomesticated accessions, 16% were clustered with *D. praehensilis*, 37% with
20 *D. abyssinica* and the remaining 47% with *D. cayenensis*-*D. rotundata*. These results demonstrated the use
21 of wild plants by farmers in their domestication process, and suggested that plants derived from interva-
22 rietal and interspecific hybridisation may also be subject to this process. This study has shown that through
23 domestication farmers influence and increase the genetic diversity in yam by using sexual reproduction of
24 wild and possibly cultivated yams.

25

26

27

28 Introduction

29 Yam (*Dioscorea* sp.) is the second most important
30 tuber crop in Africa after cassava. West African
31 farmers produce more than 90% of the world's
32 yams (FAOSTAT 2003). In West Africa, culti-
33 vated yams mostly belong to the *D. cayenensis*-*D.*
34 *rotundata* (*D. cayenensis* Lam., *D. rotundata* Poir.)
35 complex. In Benin, the wild species *D. abyssinica*
36 Hochst. ex Kunth and *D. praehensilis* Benth. occur
37 sympatrically with the cultivated complex.

38 Terauchi et al. (1992), Hamon et al. (1995) and
39 Ramser et al. (1997) showed, using isozymes and
40 RFLP (restriction fragment length polymor-
41 phism), that these wild species are the main pro-
42 genitors of the cultivated complex. However, they
43 could not discriminate the three species with these
44 markers and hence proposed that they are closely
45 related.

46 Wild yams mainly reproduce sexually while cul-
47 tivated yams are vegetatively propagated. How-
48 ever, many yam cultivars have limited flowering

49 potential and thus hybridisation between varieties
50 has been used in varietal improvement (Sadik and
51 Okereke 1975; Hamon et al. 1997; Dansi et al.
52 1999).

53 Only a few studies have dealt with processes
54 affecting the genetic diversity of vegetatively
55 propagated crops. Studies on cassava and potato
56 have shown that sexual reproduction does take
57 part in increasing genetic diversity through certain
58 farmers' practices (Quiros et al. 1992; Roa et al.
59 1997; Elias et al. 2000; Ortiz 2001). The purpose of
60 this study was to assess the effect of farmers'
61 practices on the diversity of *D. cayenensis*-*D. ro-*
62 *tundata* cultivars.

63 In West Africa, social scientists have docu-
64 mented an original practice called 'domestication'
65 that is implemented by certain yam farmers, (Baco
66 2000; Dumont and Vernier 2000; Okry 2000;
67 Houemassou Bossa 2001; Mignouna and Dansi
68 2003; Tostain et al. 2003; Vernier et al. 2003). In
69 the case of yam, 'domestication' involves the
70 adaptation of spontaneous plants to cultivation
71 constraints without genetic changes. To avoid
72 confusion, we use the word 'spontaneous' for
73 plants growing without farmers help, and 'wild'
74 for plants identified as a wild species. According to
75 this definition, 'spontaneous' is a general term
76 referring to hybrid, volunteers and even wild yams.

77 During the domestication of spontaneous
78 plants, farmers try to obtain some modifications in
79 tuber form, size and taste. They use only vegetative
80 multiplication and never sexual reproduction.
81 First, farmers select a spontaneous tuber for its
82 likeness to cultivated varieties and plant it in their
83 fields. In this paper, we use the name 'predomes-
84 ticated' yams in reference to plants that farmers
85 intend to domesticate. For at least 3 years, farmers
86 submit the predomesticated tuber to stress,
87 e.g. two harvests of the tuber during the cultiva-
88 tion cycle, to obtain phenotypic modifications in
89 the plant. If they are satisfied with the modifica-
90 tions, the tuber is mixed with tubers of a similar
91 variety or gives rise to a new variety (Dumont
92 1982; Dumont and Vernier 2000; Tostain et al.
93 2003; Vernier et al. 2003). Dumont and Vernier
94 (2000) reported that no genetic changes are ex-
95 pected during the domestication process since only
96 vegetative propagation is used, and that domesti-
97 cated plants produced return to their wild aspect if
98 they are no longer cultivated. The mechanism
99 underlying the phenotypic modifications is

unknown. They could result from phenotypic 100
plasticity, epigenetic modifications (Tostain et al. 101
2003) or somatic mutations. The latter two 102
explanations are compatible with the fact that 103
morphological changes are maintained through 104
vegetative multiplication. 105

For numerous authors, predomesticated plants 106
are wild yams, principally *D. abyssinica* and 107
D. praehensilis, because farmers collect them from 108
non-cultivated areas (Hamon et al. 1992; Dumont 109
and Vernier 2000; Mignouna and Dansi 2003; 110
Tostain et al. 2003). The latter authors concluded 111
that domestication, as practised by farmers, results 112
in gene flow between the cultivated species com- 113
plex (*D. cayenensis*-*D. rotundata*) and its wild re- 114
lated species. However, Mignouna and Dansi 115
(2003) recently showed by morphological analysis 116
that predomesticated plants could not always be 117
clearly identified as belonging to either wild or 118
cultivated species. 119

It is important to clarify the nature of sponta- 120
neous yams that farmers select for domestication 121
in order to understand the consequences of 122
domestication on yam diversity. In this paper, we 123
present results on the nature of predomesticated 124
plants used in Benin. We used amplified fragment 125
length polymorphism (AFLP) to distinguish the 126
two wild species *D. abyssinica* and *D. praehensilis* 127
from the *D. cayenensis*-*D. rotundata* cultivated 128
complex in order to assign predomesticated plants 129
in each species. 130

Materials and methods 131

Plant material 132

In all, 213 yam plants from Benin were analysed. 133
There were 70 cultivated plants (*D. cayenensis*-*D.* 134
rotundata, as described by Hamon et al. 1986), 32 135
predomesticated plants, 86 *D. abyssinica* and 25 136
D. praehensilis (Figure 1). Wild plants were col- 137
lected to cover the distribution area of *D. abys- 138*
sinica and *D. praehensilis*. The botanical 139
classification was based on morphological char- 140
acters (Hamon et al. 1995). Nine samples collected 141
in southern Benin were attributed to *D. abyssinica* 142
but seemed to be intermediate between *D. prae-* 143
hensilis and *D. abyssinica*. The sampling of culti- 144
vated and predomesticated plants took into 145
account information derived from social studies of 146

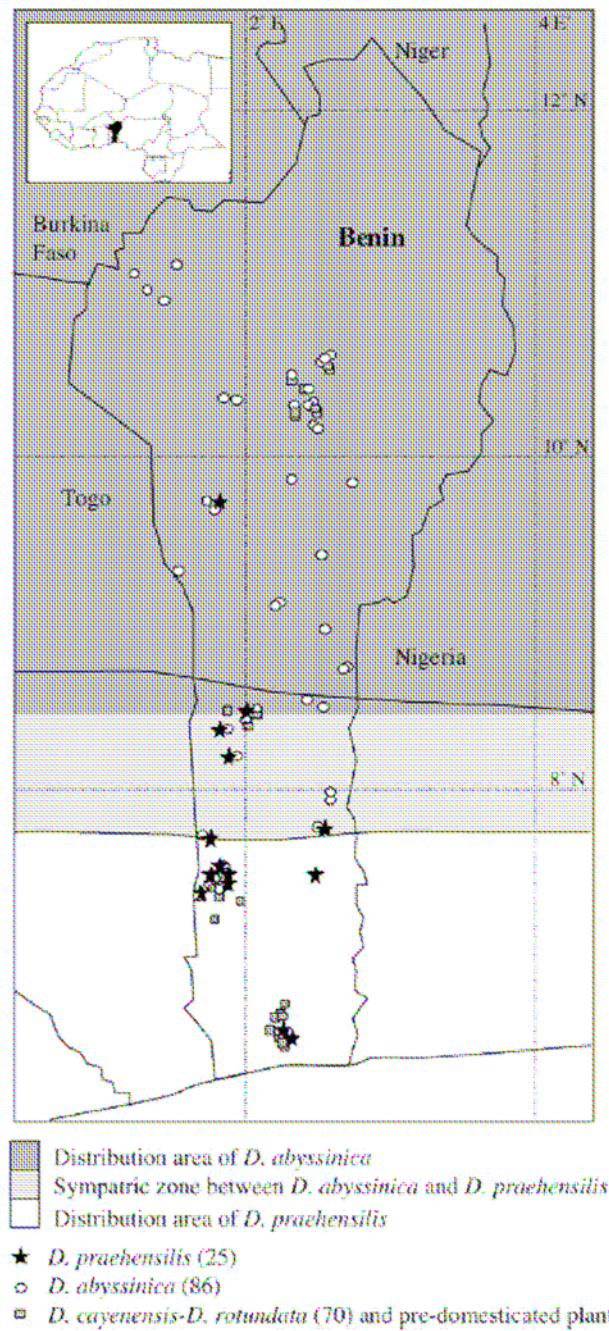


Figure 1. Geographical origin of plant samples. *D. abyssinica*, a savannah yam, grows in northern and central Benin and *D. praehensilis*, a forest yam, grows in the centre and south. A sympatric area in central Benin was documented by Hamon et al. (1995).

147 domestication practice (Baco 2000; Okry 2000;
 148 Houemassou Bossa 2001). Eight villages were se-
 149 lected for the importance of yam cultivation and
 150 domestication practices. In these villages, only

farmers who harvested tubers themselves and who
 stored their varieties separately were selected. This
 selection was made to ensure correct plant identi-
 fication, especially for predomesticated plants. The

151
 152
 153
 154

155	cultivated tubers collected were representative of	each), TruI primer (1 μ M), dNTP (375 μ M), Taq	200
156	the most cultivated varieties in Benin (Dansi et al.	polymerase (0.5 U) in its buffer (1X) and MgCl ₂	201
157	1999). All predomesticated plants found were	(2.5 mM). Amplification products were separated	202
158	collected.	on a 6.5% acrylamide gel in a Li-Cor IR ² auto-	203
159	The list and geographical origin of the studied	ated DNA sequencer (Li-Cor, Lincoln, NE,	204
160	accessions are available from the authors.	USA).	205
161	<i>DNA extraction</i>	<i>Data analysis</i>	206
162	Total DNA was extracted from fresh apex in	Gel analysis was carried out with AFLP-Quan-	207
163	sorbitol buffer (sorbitol 0.35 M, Tris 0.1 M,	tar TM Pro 1.0 (KeyGene products B.V., Wagen-	208
164	EDTA 5 mM, bisulfite 0.5%). After centrifugation	ingen, Netherlands). AFLP markers were scored	209
165	(9000 G, 10 min, 4 °C), samples were incubated in	for present (1), absent (0) and ambiguous (?)	210
166	Matab buffer (NaCl 1.2 M, Tris 0.1 M, EDTA	bands. Only polymorphic AFLP markers without	211
167	20 mM, Matab 4% (Sigma)) for 4 h at 65 °C and	any ambiguous band were included in the analysis.	212
168	treated with RNase A (Qbiogene) 30 min at 37 °C.	Thus there was no missing data in the final matrix.	213
169	Samples were treated twice with chloroform/iso-	A neighbor-joining tree(NJ-Tree) (Saitou and	214
170	amyl 24:1 (centrifugation 9000 G, 10 min, 10 °C).	Nei 1987) was generated with the 213 individuals	215
171	DNA was precipitated with 0.6 vol of isopropanol	using Population 1.2.28 (Langella 2000) and	216
172	(centrifugation 14000 G, 15 min, 4 °C), washed in	TreeView 1.6.6 (Page 1996). Pair-wise genetic dis-	217
173	70% ethanol, dried and resuspended in sterile	tances between all individuals were calculated	218
174	water.	based on the shared alleles distance (Chakraborty	219
175	<i>AFLP analysis</i>	and Jin 1993) using Population 1.2.28.	220
176	A slightly modified version of the protocol de-	Principal component analysis (PCA) was per-	221
177	scribed by Vos et al. (1995) was used. Total DNA	formed using Statistica 6 (Statsoft France 2001.	222
178	(375 ng) was digested with EcoRI (5 U) and TruI	STATISTICA version 6, www.statsoft.com) on	223
179	(5 U) in Y ⁺ /Tango buffer (MBI Fermentas).	the 181 individuals of <i>D. abyssinica</i> , <i>D. praehensilis</i>	224
180	Ligation was performed with EcoRI adapters	and <i>D. cayenensis</i> - <i>D. rotundata</i> . Predomesticated	225
181	(0.1 μ M), TruI adapters (1 μ M) and T4 ligase	individuals were projected on the same graph as	226
182	(2 U, MBI Fermentas) in its buffer (1X).	supplementary points, i.e. they did not contribute	227
183	Pre-amplification was performed via 20 PCR cy-	to the definition of principal components.	228
184	cles (94 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 1 min) using	Variance components were calculated by AM-	229
185	EcoRI and TruI primers (0.1 μ M), dNTPs	OVA conducted on <i>D. abyssinica</i> , <i>D. praehensilis</i>	230
186	(200 μ M), Taq polymerase (1 U, Promega, storage	and <i>D. cayenensis</i> - <i>D. rotundata</i> individuals. Pre-	231
187	buffer A) in its buffer (1X) and MgCl ₂ (2.5 mM).	domesticated plants were not included. Signifi-	232
188	The four primer combinations E-ACA/T-CTC,	cance was tested by a resampling approach using	233
189	E-ACT/T-CTC, E-ACA/T-CTT and E-AGC/T-	999 permutations. This analysis was carried out	234
190	CTT were selected by screening 30 combinations.	using GenAlEx (Peakall and Smousse 2001).	235
191	Combinations with the same TruI primer were	Results	236
192	multiplexed in PCR. EcoRI primers were labelled	AFLP analysis of 213 individuals revealed 510	237
193	with the fluorescence dye (IRDye 700 or IRDye	bands with the four primer combinations	238
194	800 nm, Li-Cor, Lincoln, NE, USA) so that mul-	(Table 1). Only 26 bands were monomorphic and	239
195	tiplexed combinations had different dyes. Specific	the overall polymorphism level was 94.9%. Fur-	240
196	amplification was performed by 46 PCR cycles	ther analyses were conducted on the 91 markers	241
197	(94 °C 30 s, 65 °C 30 s, -0.7 °C per cycle, 72 °C	without missing data. All of these markers were	242
198	1 min for 13 cycles, 94 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C	present in at least one <i>D. abyssinica</i> individual.	243
199	1 min for 33 cycles) with EcoRI primers (0.1 μ M	Eighty-six percent of the markers were present in	244

Table 1. Total number of bands detected and markers scored for different primer combinations.

Primer combinations	Total number of bands	Number of polymorphic bands	Polymorphism rate (%)	Number of markers scored
E-ACA/M-CTC	108	98	90.7	14
E-ACT/M-CTC	131	126	96.2	28
E-ACA/M-CTT	134	128	95.5	23
E-AGC/M-CTT	137	132	96.4	26
Total	510	484	94.9	91

245 *D. praehensilis* and 92% in *D. cayenensis-D. ro-*
 246 *tundata*. There was no diagnostic markers but only
 247 specific markers, which are present in at least one
 248 individual of one species and absent from the other
 249 species. Six markers were specific to the wild spe-
 250 cies. The frequency of four out of these six wild
 251 specific markers was less than 10%. No markers
 252 were specific of *D. cayenensis-D. rotundata*.

253 *Overall genetic structure*

254 A neighbor-joining tree was built to classify all
 255 individuals, including predomesticated ones
 256 (Figure 2). The tree showed three clustered groups
 257 that corresponded overall to the three species *D.*
 258 *abyssinica*, *D. praehensilis* and *D. cayenensis-D.*
 259 *rotundata*.

260 This classification was well supported by AM-
 261 OVA results on the genetic distance matrix of *D.*
 262 *abyssinica*, *D. praehensilis* and *D. cayenensis-D.*
 263 *rotundata* individuals. The analysis showed that
 264 20% ($p < 0.002$) of the total genetic variance
 265 could be explained by differences between the three
 266 species. Eighty percent ($p < 0.002$) of the genetic
 267 variance was present within each species.

268 Sixteen individuals did not cluster in the species
 269 group in which they were classified by morpho-
 270 logical identifications. The results highlighted the
 271 introduction of wild genotypes in cultivated vari-
 272 eties: three cultivated individuals (CR4, CR113,
 273 CR114) clustered with the *D. abyssinica* group and
 274 one (CR135) with the *D. praehensilis* group. Vol-
 275 unteers could be identified: three *D. praehensilis*
 276 individuals (P63, P225 and P428) clustered with
 277 the *D. cayenensis-D. rotundata* group.

278 The other individuals corresponded to the nine
 279 individuals identified as *D. abyssinica* but which
 280 seemed to be intermediate between *D. praehensilis*
 281 and *D. abyssinica* (see Materials and methods).

Based on the genetic analysis, six individuals
 (A414, A415, A421, A422, A432, A436) clustered
 with the *D. praehensilis* group and three (A413,
 A431, A437) clustered with *D. cayenensis-D. ro-*
tundata. We considered that these individuals were
 misclassified since their morphological identifica-
 tion was ambiguous. They were therefore not
 considered for the analysis of predomesticated
 plants.

The PCA was performed only on *D. abyssinica*,
D. praehensilis and *D. cayenensis-D. rotundata*
 individuals to obtain another representation of the
 genetic diversity (Figure 3). Predomesticated
 plants were projected as supplementary individu-
 als. The first and the second axes explained 10.7
 and 5.4% of the genetic variance, respectively.

The results were consistent with those of the
 NJ-Tree. If we overlooked the misclassified indi-
 viduals noted above, we observed three poles,
 corresponding to the three species. The *D. abys-
 sinica* samples clustered together and separately
 from the other individuals. There was a separation
 between most of the *D. praehensilis* and *D. cay-
 enensis-D. rotundata* samples, but some individu-
 als of the two species were mixed on the first two
 axes as well as on the third and forth axes (not
 represented).

Genetic nature of predomesticated plants

The analysis of predomesticated plants was based
 on the three clusters corresponding to *D. abys-
 sinica*, *D. praehensilis* and *D. cayenensis-D. rotun-
 data*, except for the nine intermediate individuals.

Based on the NJ-Tree (Figure 2), predomesti-
 cated plants could be assigned to each of the three
 species. Five individuals (16%) clustered with
D. praehensilis and 12 (37%) with *D. abyssinica*.
 Most of these samples had a band for at least one

6

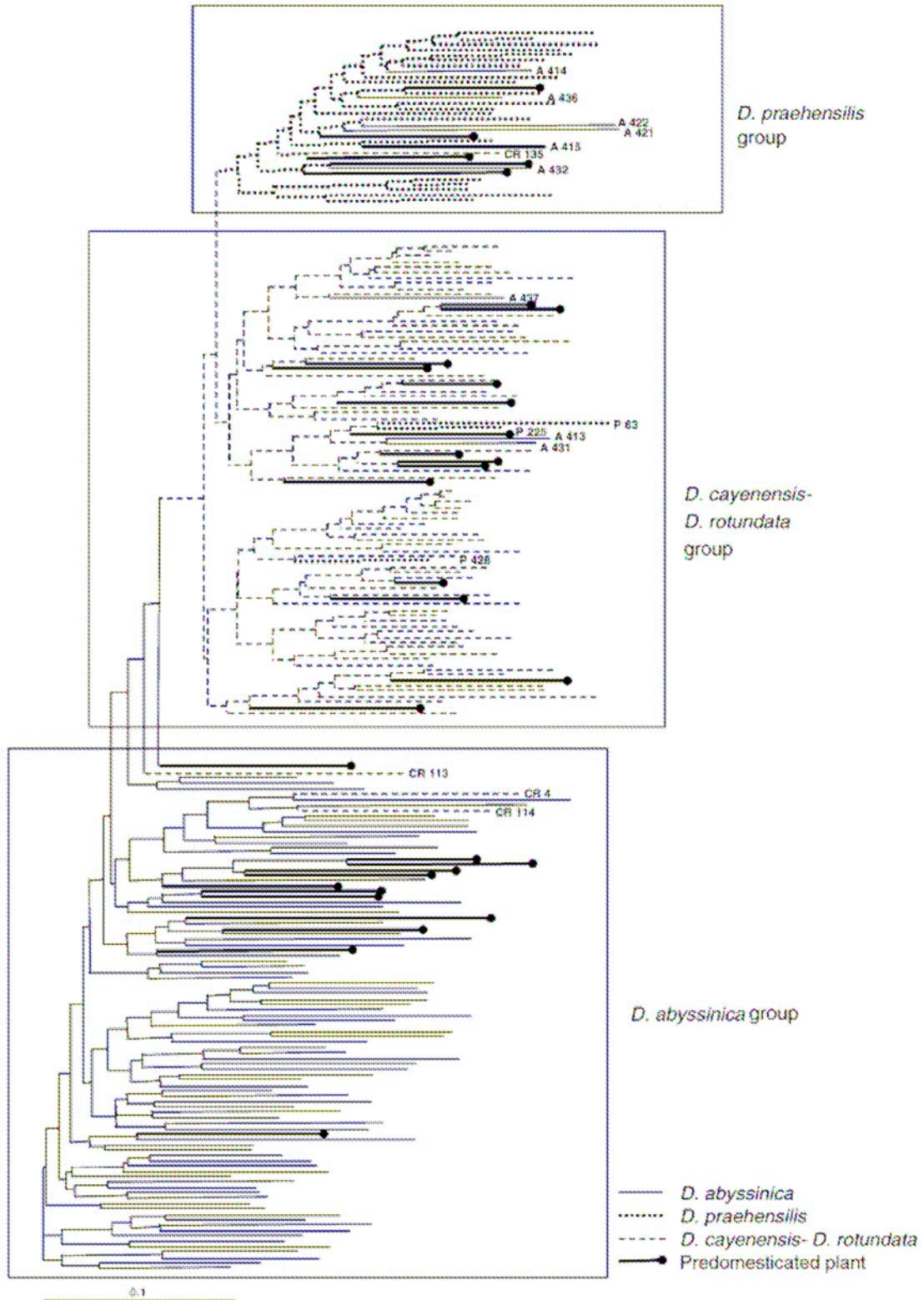


Figure 2. Unrooted neighbor-joining tree based on shared alleles distance. Three clusters were identified. Sixteen plants named on the tree were morphologically identified in one species but clustered with another species (A = *D. abyssinica*, P = *D. praehensilis* and CR = *D. cayenensis-D. rotundata*).

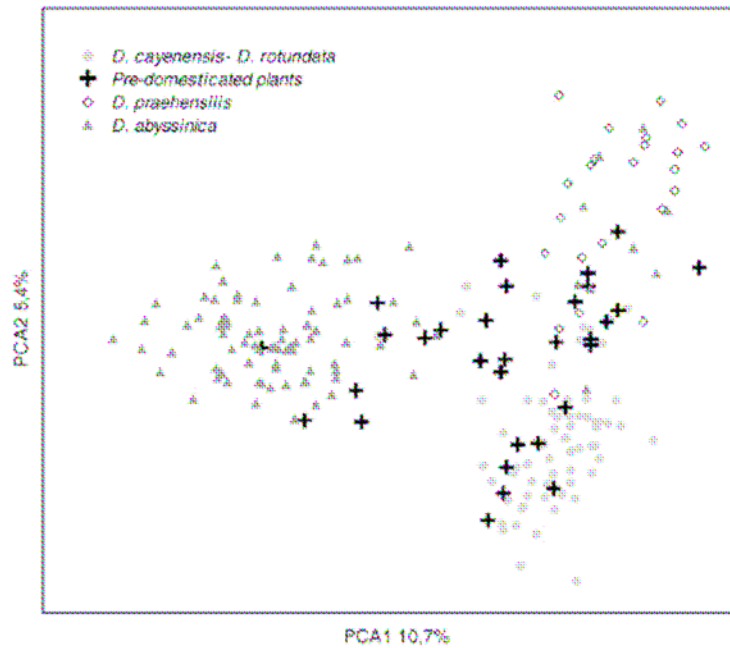


Figure 3. Graphic representation of the principal component analysis (PCA). The PCA was based on 91 AFLP markers for 181 samples from *D. abyssinica*, *D. praehensilis*, and *D. cayenensis*—*D. rotundata*. The predomesticated plants were projected in the PCA as supplementary points.

319 marker specific to wild species. Fifteen individuals
 320 (47%) clustered with *D. cayenensis*—*D. rotundata*.
 321 These samples had no band for the markers spe-
 322 cific to the wild species. In the PCA (Figure 3), the
 323 assignment was similar but 14 predomesticated
 324 samples were intermediate between *D. praehensilis*
 325 and *D. cayenensis*—*D. rotundata*. These samples
 326 were classified in either *D. praehensilis* or *D. cay-*
 327 *enensis*—*D. rotundata* by the NJ-Tree.

328 Discussion

329 Identification of the three species

330 The high polymorphism revealed by AFLP markers
 331 allowed us to differentiate between *D. abyssinica*,
 332 *D. praehensilis* and *D. cayenensis*—*D. rotundata*.
 333 Isozyme and chloroplast DNA analyses
 334 (Terauchi et al. 1992, Hamon et al. 1997) had not
 335 shown this differentiation, likely because of the
 336 lower polymorphism of these markers. Our results
 337 confirmed those of Ramser et al. (1997) and
 338 Tostain et al. (2002) based on RAPD and different
 339 AFLP primers.

The two wild species differ in morphology and 340
 ecology (Hamon et al. 1995). Our results showed 341
 that the morphological classification can be mis- 342
 leading in some cases. Nine individuals were 343
 morphologically classified as *D. abyssinica* because 344
 they did not exhibit very spiny roots in the tuber 345
 crown (S. Tostain, personal communication), a 346
 key character of *D. praehensilis* (Hamon et al. 347
 1995). However, their stems and leaves were not 348
 typical of *D. abyssinica* species. These samples 349
 were collected in an area where the presence of 350
D. abyssinica had not been recorded by Hamon et 351
 al. (1995) (Figure 1) and they belonged to the 352
D. praehensilis genetic group in the molecular 353
 analysis. Two hypotheses could be put forward to 354
 explain these phenotypes which deviate from the 355
 typical *D. praehensilis* phenotype. First, these yams 356
 could be interspecific hybrids between *D. prae-* 357
hensilis and *D. cayenensis*—*D. rotundata*. Some 358
 hybridisations between these two species were 359
 obtained by Zoundjehkpon et al. (1994). Sec- 360
 ondly, in a recent survey, we observed that in this 361
 southern Benin area where these samples were 362
 from, *D. praehensilis* plants are frequently har- 363
 vested by local inhabitants. They harvest only a 364

365 piece of the tuber without uprooting the plant,
 366 which can therefore be harvested several times.
 367 This practice is named paraculture (Dounias
 368 1996). We hypothesise that successive harvests of
 369 the tuber induce phenotypic modifications in
 370 *D. praehensilis* plants submitted to this stress.
 371 Consequently, the harvested plants could not be
 372 clearly identified as *D. praehensilis*.
 373 This does not challenge the conclusion that
 374 AFLP markers are efficient for distinguishing
 375 *D. cayenensis*-*D. rotundata*, *D. abyssinica* and
 376 *D. praehensilis*.

377 *Nature of predomesticated plants*

378 *Predomesticated plants derived from wild species*
 379 AFLP analysis showed that half of the predo-
 380 mesticated plants belonged to *D. abyssinica* and
 381 *D. praehensilis* species. This demonstrates that
 382 farmers select wild plants for domestication.
 383 Numerous authors have assumed that domestica-
 384 tion involves the use of wild plants (Hamon et al.
 385 1992; Dumont and Vernier 2000; Mignouna and
 386 Dansi 2003; Tostain et al. 2003), and we obtained
 387 molecular evidence in support of this assumption.
 388 *D. abyssinica* and *D. praehensilis* species are
 389 principally propagated by seeds (Ayensu and
 390 Coursey 1972). Consequently, wild plants selected
 391 by farmers are the result of sexual reproduction.
 392 Since some predomesticated plants were geneti-
 393 cally close to both *D. cayenensis*-*D. rotundata* and
 394 *D. praehensilis* in the PCA, we hypothesise that
 395 these plants are genetically intermediate between
 396 wild and cultivated species and could be interspe-
 397 cific hybrids. Interspecific hybridisation was ob-
 398 served by Zoundjehkpon et al. (1994). A decrease
 399 in flowering ability is a domestication syndrome
 400 trait since farmers propagate yam vegetatively and
 401 likely select genotypes that allocate more resources
 402 to tuber development than to sexual reproduction
 403 (Ayensu and Coursey 1972). However, many
 404 varieties can flower and produce seeds (Hamon
 405 et al. 1997; Dansi et al. 1999). Furthermore, the
 406 sympatric situation of wild and cultivated species,
 407 field introduction of wild plants during domesti-
 408 cation and synchronisation of flowering time fa-
 409 vour inter-specific hybridisation (Zoundjehkpon
 410 et al. 1994; Ellstrand et al. 1999; Tostain et al.
 411 2003). There are not enough specific AFLP
 412 markers available for each species to confirm the

hybrid origin of intermediate plants. With the
 advent of microsatellite markers (Terauchi and
 Konuma 1994; Mignouna et al. 2003), it will be
 possible to analyse hybridisation and gene
 flow between *D. abyssinica*, *D. praehensilis* and
D. cayenensis-*D. rotundata*.

Predomesticated plants derived from cultivated species

Forty-seven percent of predomesticated samples
 were assigned to the *D. cayenensis*-*D. rotundata*
 genetic group. This was unexpected. As far as we
 are aware, no social science studies have reported
 that plants being domesticated by farmers belong
 to cultivated species.

In this study, we found that three spontaneous
 plants morphologically identified as *D. praehensilis*
 were clustered genetically with the *D. cayenensis*-
D. rotundata group. This indicates that some cul-
 tivated genotypes must grow outside the fields and
 that farmers may collect them when gathering
 spontaneous plants. Two hypotheses could explain
 the presence of cultivated genotypes in the natural
 habitat. First, these plants could be volunteers
 derived from some cultivated plants that escaped
 into the wild environment. Some tuber fragments
 can be left behind in the ground during harvest.
 Then they could grow the following year and be
 harvested by farmers, since they frequently collect
 predomesticated plants from fallow lands near
 their cultivated plants (Okry 2000, Mignouna and
 Dansi 2003). However, these volunteers likely only
 occur in small numbers because yam is the main
 crop species grown in the fields. In slash-and-burn
 farming systems in West Africa, farmers generally
 grow maize or cotton the second year, thus
 reducing the likelihood of volunteer yam devel-
 opment (Baco 2000). Secondly, these plants could
 be the result of natural intervarietal hybridisation.
 These hybrids can be produced through
 cross-fertilisation among the numerous varieties
 that are simultaneously cultivated in the same field
 (Baco 2000). Seeds can then be dispersed and
 germinated inside and outside the fields.

Farmers usually select predomesticated plants
 for their likeness to cultivated varieties. For
 example, in northern Benin, they look for plants
 with large green stems, large white tubers and no
 spines (Baco 2000). This could explain why nearly
 half of predomesticated plants have a cultivated
 genotype.

463 Mignouna and Dansi (2003) proposed to replace
464 the term 'domestication' with 'ennoblement'. In-
465 deed, 'domestication' usually implies drastic ge-
466 netic changes in the material that do not take place
467 with this practice used by yam farmers. Our results
468 showed that plants belonging to the cultivated
469 species were submitted to this practice, thus
470 strongly supporting this proposed change in
471 terminology.

472 *Impact of domestication on the diversity* 473 *of cultivated varieties*

474 The situation we described in yam seems to be
475 quite similar to situations that prevail with respect
476 to other vegetatively propagated plants. Studies in
477 cassava and potato showed that traditional farm-
478 ers' practices involve cultivating plants which grow
479 spontaneously in the field. These plants are derived
480 from hybridisation within cultivated species and
481 between cultivated and wild species. The studies
482 showed that these practices maintain evolutionary
483 processes and are partly responsible for the great
484 genetic diversity observed (Quiros et al. 1992; Roa
485 et al. 1997; Elias et al. 2000; Ortiz 2001).

486 Yam domestication is not always successful.
487 Many domestication attempts do not result in
488 cultivated plants (S. Tostain, personal communi-
489 cation). Since the predomesticated plants we stud-
490 ied were not monitored over several years, we do
491 not know if these plants will ultimately be inte-
492 grated in cultivated varieties. However, two culti-
493 vated individuals clustered with the *D. abyssinica*
494 genetic group and three with the *D. praehensilis*
495 group. This is evidence that the domestication of
496 wild plants can lead to integration of wild geno-
497 types into the cultivated gene pool.

498 Our results revealed that the domestication
499 practice involves plants produced by sexual
500 reproduction of wild yams and probably cultivated
501 yams. Through the domestication practice, sexual
502 reproduction contributes to the evolutionary
503 dynamics of yam, a vegetatively propagated plant.

504 Domestication is still practised in Benin, but this
505 trend is declining. In northern Benin, about 5% of
506 farmers practised domestication in 1995 (Dumont
507 and Vernier 2000), while in 2000 (Tostain et al.
508 2003) there were only around 1%. Moreover, yam
509 genetic diversity is threatened by the introduction
510 of improved varieties and other cultivated species.

For instance, in Côte d'Ivoire, most cultivated
yams belong to *D. alata* (Hamon et al. 1997), a
species from the Pacific Ocean region. Preservation
of local knowledge seems to be an important way
of conserving genetic resources (Brush 2000). The
domestication practice should thus be taken into
account if on-farm conservation plans are to be set
up (Baco 2003).

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the
Bureau des Ressources Génétiques (2001–2002).
Preliminary surveys were conducted during a
project supported by IPGRI (1999–2000). We
thank Serge Hamon and Yves Vigouroux for their
comments on the first drafts of the manuscript.
The IRD team is particularly thankful to the
management of the Université d'Abomey-Calavi
for its continuous support to the 'Yam genetic
diversity' programme.

References

- Ayensu E.S. and Coursey D.G. 1972. Guinea yams. The bot-
any, ethnobotany, use and possible future of yams in West
Africa. *Econ. Bot.* 26: 301–318.
- Baco M.N. 2000. La "domestication" des ignames sauvages
dans la sous-préfecture de Sinendé: savoirs locaux et pra-
tiques endogènes d'amélioration génétique des *Dioscorea*
abyssinica Hochst. Thèse d'Ingénieur Agronome, Université
Nationale du Bénin, Bénin.
- Baco M.N. 2003. Etude de la faisabilité d'une gestion et d'une
conservation in situ de l'agrobiodiversité : le modèle igname
dans le nord du Bénin. DEA Aménagement, Développement,
Environnement, Université d'Orléans, France.
- Brush S.B. 2000. The issues of *in situ* conservation of crop ge-
netic resources. In: Brush S.B. (ed.), *Genes in the Fields,*
On-farm Conservation of Crop Diversity. IDRC-IPGRI-
Lewis publisher, pp. 3–28.
- Chakraborty R. and Jin L. 1993. A unified approach to study
hypervariable polymorphisms: Statistical considerations of
determining relatedness and population distances. In: Pena
S.D.J., Chakraborty R., Epplen J.T. and Freys A.J. (eds),
DNA Fingerprinting: State of the Science. Birkhauser Verlag,
Basel, pp. 153–175.
- Dansi A., Mignouna H.D., Zoundjèhepon J., Sangare A.,
Asiedu R. and Robert T. 1999. Morphological diversity,
cultivar groups and possible descent in the cultivated yams
(*Dioscorea cayenensis*/*D. rotundata*) complex in Benin
Republic. *Genet. Resour. Crop Evol.* 46: 371–388.
- Dounias E. 1996. Sauvage ou cultivé? La paraculture des ig-
names sauvages par les pygmées Baka au Cameroun. In:
Hladik C.M., Hladik A., Pagezy H., Linares O.F., Koppert

- 561 G.J.A. and Froment A. (eds), L'alimentation en forêt tropi-
562 cale: interactions bioculturelles et perspectives de développ-
563 ement. UNESCO, Paris, pp. 939-960.
- 564 Dumont R. 1982. Ignames spontanées et cultivées au Bénin et
565 en Haute-Volta. In: Miège J. and Lyonga S.N. (eds), Yams/
566 Ignames. Clarendon Press, Oxford, pp. 31-36.
- 567 Dumont R. and Vernier P. 2000. Domestication of yams
568 (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) within the Bariba ethnic
569 group in Benin. Outlook Agri. 29: 137-142.
- 570 Elias M., Panaud O. and Robert T. 2000. Assessment of genetic
571 variability in a traditional cassava (*Manihot esculenta* Crantz)
572 farming system, using AFLP markers. Heredity 85: 219-230.
- 573 Ellstrand N.C., Prentice H. and Hancock J. 1999. Gene flow
574 and introgression from domesticated plants into their wild
575 relatives. Ann. Rev. Ecol. Syst. 30: 539-563.
- 576 FAOSTAT 2003. <http://faostat.fao.org/default.jsp>.
- 577 Hamon P., Hamon S. and Tio-Touré B. 1986. Les ignames du
578 complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata* de Côte d'Ivoire.
579 Inventaire et descriptions des 'cultivars' traditionnels.
580 IBPGR/FAO, Rome.
- 581 Hamon P., Zoundjehkpon J., Dumont R. and Tio-Touré B.
582 1992. La domestication de l'igname (*Dioscorea* sp.): Consé-
583 quence pour la conservation des ressources génétiques. In:
584 Complexe d'espèces, flux de gènes et ressources génétiques
585 des plantes. Colloque international en hommage à Jean
586 Pernès, BRG, Paris XI, France, January 8-10, pp. 175-184.
- 587 Hamon P., Dumont R., Zoundjehkpon J., Tio-Touré B. and
588 Hamon S. 1995. Les ignames sauvages d'Afrique de l'ouest.
589 Caractères morphologiques. ORSTOM, Paris.
- 590 Hamon P., Dumont R., Zoundjehkpon J., Ahoussou N. and
591 Tio-Touré B. 1997. Les ignames. In: Charrier A., Jacquot M.,
592 Hamon S. and Nicolas D. (eds), L'amélioration des Plantes
593 Tropicales. CIRAD-ORSTOM Repères press, Paris, pp. 385-
594 400.
- 595 Houemassou Bossa J. 2001. Gestion de la diversité variétale au
596 sein du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata* et la
597 domestication de *D. praehensilis*: savoirs locaux et pratiques
598 endogènes dans la sous-préfecture de Djidja. Thèse d'Ing-
599énieur Agronome, Université d'Abomey-Calavi, Bénin.
- 600 Langella O. 2000. <http://www.cnrs-gif.fr/pge/bioinfo/popula->
601 tions/index.php.
- 602 Mignouna H.D., Abang M.M. and Fagbemi S.A. 2003. A
603 comparative assessment of molecular marker assays
604 (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea ro-*
605 *tundata*) germplasm characterisation. Ann. Appl. Biol. 142:
606 269-276.
- 607 Mignouna H.D. and Dansi A. 2003. Yam (*Dioscorea* sp.)
608 domestication by the Nago and Fon ethnic groups in Benin.
609 Genet. Resour. Crop Evol. 50: 519-528.
- 610 Okry K.F. 2000. L'igname dans le système de production ag-
611 ricole de Banté et la domestication de quelques-unes de ses
612 formes sauvages: Savoirs locaux et pratiques endogènes de
613 culture et d'amélioration génétique. Thèse d'Ingénieur
614 Agronome, Université Nationale du Bénin, Bénin.
- Ortiz R. 2001. The state of the use of potato genetic diversity. 615
In: Cooper H.D., Spillane C. and Hodgkin T. (eds), Broad- 61
ening the Genetic Base of Crop Production. IPGRI-FAO, 61
London, pp. 181-200.
- Page R.D.M. 1996. TREEVIEW: An application to display 619
phylogenetic trees on personal computers. Comput. Appl. 62
Biosci. 12: 357-358. 62
- Peakall R. and Smouse P.E. 2001. GenAIEx V5: Genetic Anal- 622
ysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and 62
Research. Australian National University, Canberra, Aus- 62
tralia. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAIEx/>. 62
- Quiros C.F., Ortega R., Van Raamsdonk L., Herrera-Montoya 626
M., Cisneros P., Schmidt E. and Brush S.B. 1992. Increase of 62
potato genetic resources in their center of diversity: the role 62
of natural outcrossing and selection by the Andean farmer. 62
Genet. Resour. Crop Evol. 39: 107-113. 63
- Ramser J., Weising K., Lopez-Peralta C., Terhalle W., Terauchi 631
R. and Kahl G. 1997. Molecular marker based taxonomy and 63
phylogeny of Guinea yam (*D. rotundata*—*D. cayenensis*). 63
Genome 40: 903-915. 63
- Roa A.C., Maya M.M., Duque M.C., Thome J., Allem A.C. 635
and Bonierbale M.W. 1997. AFLP analysis of relationships 63
among Cassava and other *Manihot* species. Theor. Appl. 63
Genet. 95: 741-750. 63
- Sadiq S. and Okereke O.U. 1975. A new approach to improve- 639
ment of yam *Dioscorea rotundata*. Nature 254: 134-135. 64
- Saitou N. and Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a 641
new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. 64
Evol. 4: 406-425. 64
- Terauchi R., Chikaleke V.A., Thottappilly G. and Hahn S.K. 644
1992. Origin and phylogeny of Guinea yams as revealed by 64
RFLP analysis of chloroplast DNA and nuclear ribosomal 64
DNA. Theor. Appl. Genet. 83: 743-751. 64
- Terauchi R. and Konuma A. 1994. Microsatellite polymorphism 648
in *Dioscorea tokoro*, a wild yam species. Genome 37: 794-801. 64
- Tostain S., Agbangla C. and Daïnou O. 2002. Diversité AFLP 650
des ignames sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis*. 65
Annales des sciences agronomiques du Bénin 3: 1-20. 65
- Tostain S., Okry F.K., Baco M.N., Mongbo R.L., Agbangla C. 653
and Daïnou O. 2003. La 'domestication' des ignames *Dios-* 65
corea abyssinica dans les sous-préfectures de Simendé et de 65
Banté au Bénin (Afrique de l'Ouest). Annales des sciences 65
agronomiques du Bénin 4: 33-53. 65
- Vernier P., Orkwor G.C. and Dossou A.R. 2003. Studies on 658
yam domestication and farmers' practices in Benin and 65
Nigeria. Outlook Agri. 32: 35-41. 66
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., de Lee T., Hornes 661
M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. and Zabeau M. 66
1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. 66
Nucleic Acids Res. 23: 4407-4414. 66
- Zoundjehkpon J., Hamon S., Tio-Touré B. and Hamon P. 665
1994. First controlled progenies checked by isozymic markers 66
in cultivated yams, *Dioscorea cayenensis-rotundata*. Theor. 66
Appl. Genet. 88: 1011-1016. 66

Article III : Farmers' use of sexual reproduction in a vegetatively propagated crop. The case
of yam farmers in Benin

Nora SCARCELLI, Serge TOSTAIN, Yves VIGOUROUX, Clément AGBANGLA, Ogoubi
DAÏNOU et Jean-Louis PHAM

En préparation

Farmers' use of sexual reproduction in a vegetatively propagated crop. The case of yam in Benin.

Scarcelli N.^{*}, Tostain S.^{*}, Vigouroux Y.^{*}, Agbangla C.[†], Daïnou O.[†], Pham J.-L.^{*}

^{*}Equipe DYNADIV, UMR 1097 Diversité et Génomes des Plantes Cultivées, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5, France

[†]Laboratoire de Génétique, FAST-Université d'Abomey-Calavi, BP 526 Cotonou, Benin

Abstract

The erosion of biodiversity, particularly crop diversity, has given rise to international genebanks that aim to preserve genetic resources. *In situ* conservation based on traditional management has been advocated as a complementary approach. However, the impact of traditional management on genetic diversity of vegetatively propagated crops is poorly documented. In this study, we analysed the impact of an original traditional farmers' practice on the genetic diversity of yam (*Dioscorea* sp.) in Benin. We used eleven microsatellite markers on yam tubers from a small village in northern Benin and demonstrated that wild x cultivated hybrids are spontaneously formed. Yam farmers were also found to collect wild and hybrid genotypes from surrounding savannah areas to try seeding them in their fields. We finally demonstrated that some yam varieties have a wild or hybrid signature. Lastly, we performed a broader ranging genetic analysis on yam material from throughout Benin and showed that this practice is used in different ecological and ethno-linguistic regions. Through this practice, farmers create new varieties with new genetic combinations via sexual reproduction of wild and cultivated yams. This system, whereby a sexual cycle and asexual propagation are mixed, ensures potential large-scale cultivation of the best genotypes while preserving the future adaptation.

Introduction

Since the Green Revolution of the 1960s and 1970s, international and national genebanks — repositories of germplasm resources collected worldwide — were created to preserve crops from genetic erosion. A complementary approach utilising farmers' knowledge, named *in situ* conservation, was recommended in the Convention on Biological Diversity (1992). For Brush (1), by encouraging traditional selection and management of local populations, *in situ* conservation leads to the preservation of evolutionary processes that create genetic diversity. For example, it was assumed that farmers' use of hybridization between traditional crops and their wild relatives would increase their genetic diversity (review in 2). However, farmers' selection of new genetic combinations created by hybridization was not clearly established, and this was studied principally for plants propagated by seeds (e.g. maize (3) and pearl millet (4), review in 2). How farmers use the sexual reproduction and the diversity of wild relatives for vegetatively propagated crops is poorly documented. Here we propose to analyse farmers' use of sexual reproduction of yam — a traditional vegetatively propagated crop — and its consequences on genetic diversity.

Yam (*Dioscorea* sp.) is a vegetatively propagated crop. Yam fields in traditional agroecosystems are seeded with tuber fragments from the previous harvest. In West Africa, the main cultivated species is *D. rotundata*. Although many cultivated varieties of this dioecious species produce seeds, no direct use of these seeds by farmers has ever been reported. In Benin, *D. rotundata* grows in sympatry with two wild relatives: *D. abyssinica* in northern Benin and *D. praehensilis* in the south (5, 6). Wild yam species reproduce sexually (7).

In West Africa, sociological studies have documented a unique farmer practice (8, 9). Following Mignouna and Dansi (10), we will call this practice “ennoblement”. Farmers collect tubers of wild yams and plant them in their fields. They select tubers for their likeness to cultivated varieties, e.g. in northern Benin, they look for plants with large green stems, with large tubers and white flesh and without spines. According to farmers, some of these plants develop — after 3-6 years of special cultivation practices — a tuber that is morphologically close to those of cultivated varieties. The tubers are then multiplied and cultivated if farmers are satisfied with their morphology. The biological process underlying the change in tuber morphology and its maintenance over generations are unknown. In an experimental attempt to cultivate the wild species *D. praehensilis*, Chikwendu and Okezie (11) observed changes in

plant and tuber morphology over 8 years of vegetative multiplication. Further studies are necessary to understand this process.

Plants going through the ennoblement process will be named ‘pre-ennobled’ yams in this paper. Scarcelli et al. (12) obtained the first molecular evidence that pre-ennobled yams include wild plants, as initially assumed, but also intermediate genotypes, which could be of interspecific origin. The present study aimed to conduct an in-depth analysis on the genetic consequences of ennoblement. First, we investigated *in situ* interspecific hybridization between wild and cultivated species and its use by farmers through ennoblement. Secondly, we surveyed the outcome of the ennoblement process. No studies have monitored the entire yam ennoblement cycle over several years to assess the success of this process. This monitoring is difficult because of the length of the process (3-6 years). As a direct analysis was not feasible, we analysed the diversity of cultivated genotypes in order to detect products of ennoblement. We first conducted a case study in a village in northern Benin, and then performed a country-wide survey to extend our conclusions on the genetic consequences of ennoblement.

Material and Methods

Plant material. Village-level analysis. We collected materials to analyse the genetic origin of pre-ennobled yams in the village of Gorobani, in northern Benin. In this region, crop fields are set up in reclaimed wooded savannah. *D. abyssinica*, the wild relative species, grows in sympatry with *D. rotundata*, the cultivated species, in the neighbouring savannah area. Farmers cultivated 5 to 22 different yam varieties in their fields. Here, all tubers with the same name were considered to be a variety. This suggests that a variety could contain identical genotypes through vegetative propagation along with different genotypes if farmers do not note any morphological differences. About 5% of the 350 farmers of the village practiced ennoblement, and we selected five of these farmers for this study. We collected nine tubers of pre-ennobled yams in the fields of the five selected farmers. We then collected wild (*D. abyssinica*) samples in the savannah area surrounding the five selected farmers’ fields. A total of 105 wild plants were collected. In each of the five fields, one tuber per cultivated variety was collected, representing 46 cultivated samples (*D. rotundata*). Farmers claimed that two of the sampled varieties were the result of ennoblement. The cultivated variety “Ourou Yessingué” was identified as a cultivated variety that had been admixed with

ennobled wild tubers. The cultivated variety “Dompikou” was described as the result of the ennoblement of a single tuber of wild yam (*D. abyssinica*). We studied hybridizations between wild and cultivated yam species by performing a paternity analysis on progenies of wild and cultivated plants. In the five selected farmers’ fields, we collected 93 seeds from 7 cultivated plants and collected 102 seeds on 7 wild plants in the surrounding savannah.

Large-scale analysis. To get a wider picture of the impact of the yam ennoblement practice, we also performed a large-scale study throughout Benin. We selected eight villages (Figure II-3) where yam cultivation is important and ennoblement is practiced. The village sample encompassed a broad range of situations with respect to geography, ethnicity and ecology. In southern Benin, the two sampled villages, i.e. Gounoukouin and Amakpa, are inhabited by the Fon ethnic group. In this region, the vegetation is principally rain forest where the wild species *D. praehensilis* grows. Assaba and Djagballo, two villages of Nagot ethnic group, were sampled in central Benin. The two wild species are parapatric in this region, as it is covered by a mosaic of forest and wooded savannah, which are the habitats of *D. praehensilis* and *D. abyssinica*, respectively. In northern Benin, four villages were sampled, i.e. Gorobani, Guessou Bani, Wari and Yarra, representing the Bariba and the Gando ethnic group. *D. abyssinica* grows in the predominant wooded savannah. We collected 30 tubers of pre-ennobled yams in the eight villages. Fifty-six cultivated tubers of *D. rotundata* were collected in the eight villages and were representative of the most cultivated varieties in Benin (13). Among these samples, farmers claimed that the variety Gban was the result of the ennoblement of *D. praehensilis*. We sampled 104 wild accessions, corresponding to 71 *D. abyssinica* plants and 33 *D. praehensilis* plants, throughout the distribution area of the two wild species in Benin (5).

DNA extraction and microsatellite analysis. Tubers were collected in the field and then grown in a greenhouse. DNA extraction from stem apex was done following Scarcelli et al. (15). For the paternity analysis, extractions were done from non-germinated seeds using the same protocol. For the genetic analysis, 11 microsatellite markers (2D06, 2D08, 2E07, 1A01 3F04, 3G04, 1C12, 2C05, 3B12, 2E09 and 1F08) were amplified following Scarcelli et al. (15). Migration was carried out using an ABI PrismTM 3100 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Microsatellite alleles were scored using Genescan and Genotyper software packages (Applied Biosystems).

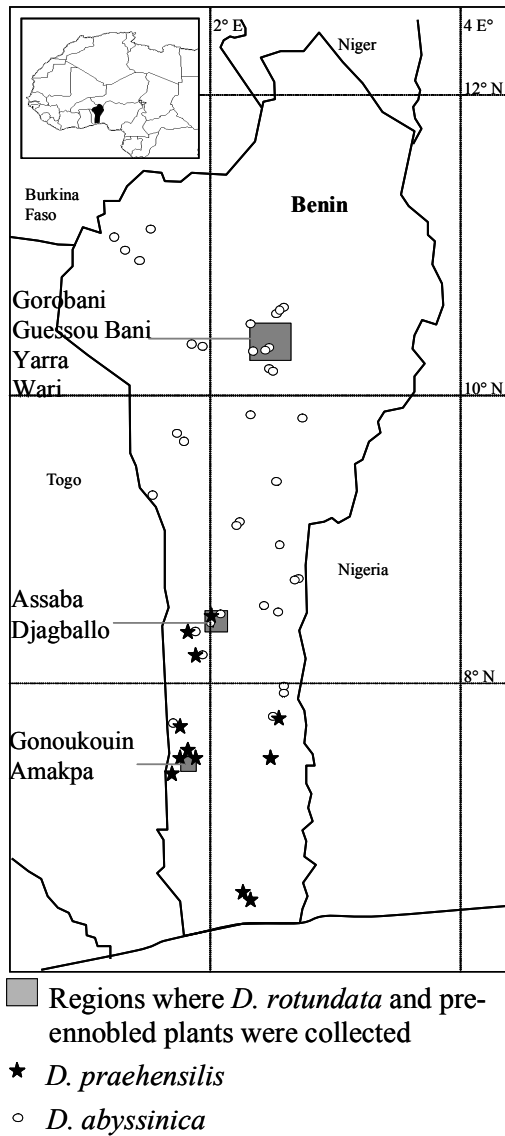


Figure II-3. Geographical origin of analysed samples.

For the large-scale analysis, cultivated and pre-ennobled samples were collected in the eight villages located on the map, and wild samples (*D. abyssinica* and *D. praehensilis*) were collected within the entire distribution range of these species. For the village-level analysis, wild, cultivated and pre-ennobled plants were sampled in the village of Gorobani in northern Benin.

Data analyses. *D. rotundata*, *D. abyssinica* and *D. praehensilis* have 40 chromosomes and were long considered to be tetraploid species. We have previously shown that *D. rotundata* is diploid (15) and suggested that *D. abyssinica* and *D. praehensilis* are also diploid. The genotyping data were consistent with these conclusions, as we observed only one or two alleles per sample for each microsatellite locus. Our genetic analyses were thus appropriate for diploid species.

We calculated observed heterozygosity (H_o), gene diversity (H_e) and allelic richness using FSTAT 2.9.3.2 (16). To test for deviation from the Hardy-Weinberg proportion, F_{is} was calculated and tested (exact test, 500 batches and 5 000 iterations per batch) using GENEPOP 3.4 (17). The F_{st} differentiation parameter between species was calculated and tested (G test, 10 000 randomisations) with FSTAT. Pre-ennobled yams were assigned to genetic groups using a Bayesian approach via the STRUCTURE 2.0 software package (18). For the village-level analysis, we assumed $K=2$ populations, corresponding to the cultivated and wild groups. We used the admixture model with a burn-in period of 30 000 steps and 10^6 MCMC replicates. For each individual q , the proportion of its genome derived from each group, and its 95% confidence interval, were calculated. Five independent runs were performed without any previous information on the plant origins. We also calculated, for each individual, its probability of having an ancestry (first and second generation) in each group. We also performed the analysis for different numbers of assumed populations ($K=2$ to $K=8$) in order to test the reproducibility of the assignment regardless of K . The large-scale analysis involved the same analyses. The number of populations was set at $K=3$ populations, corresponding to two wild groups (*D. abyssinica* and *D. praehensilis*) and a cultivated group.

Hybridization study. To assess the extent of hybridization between cultivated and wild yams, we performed a paternity analysis on progenies of wild and cultivated yams. The objective was to determine whether these progenies resulted from fecundation by a male originating from the wild or the cultivated yam species. We thus developed a method similar to a paternity analysis. Computations were performed with a homemade software program. This algorithm reconstructs, for each seed, the genotype of the male gamete using the genotype of the offspring and that of the female plant. Then a LOD score, corresponding to the logarithm of the ratio of the likelihood of a male gamete coming from the wild (*D. abyssinica*) rather than the cultivated (*D. rotundata*) reference populations, is calculated. We used allele frequencies of the wild and the cultivated groups to calculate this LOD score. Using simulations, we constructed the LOD score distribution while knowing the origin of the

male plant. We thus simulated progenies for each mother with a cultivated and wild father. Offspring genotypes were constructed with alleles randomly chosen from the female plant and from a randomly chosen plant of the reference population. For genotyped offsprings, the probability of the male plant originating from wild or cultivated species was assessed using the two LOD score simulated distributions. This probability was estimated by the rank of the calculated LOD score in the two distributions. The male parent of an offspring was considered as originating from a given group if the probability of originating from this group was higher than 0.025 and lower than 0.975, and the probability of originating from the second group was less than 0.025 or greater than 0.975. If the probability of a given offspring having a male parent in the two groups was less than 0.025 or more than 0.975, the male parent of the offspring was considered as non-attributed.

Results

Village-level analysis. *Genetic diversity.* Eleven loci were amplified in a total of 160 samples (105 *D. abyssinica*, 46 *D. rotundata*, 9 pre-ennobled yams), revealing 168 alleles. Eleven percent of these alleles were specific to the cultivated sample (*D. rotundata*) and 51% to the wild sample (*D. abyssinica*). We found significant differentiation ($p < 0.001$) between the two species ($F_{st} = 0.25$). Overall, the wild species showed a slight heterozygosity deficit ($F_{is} = 0.04$, $p < 0.001$), while the cultivated species presented a heterozygosity excess ($F_{is} = -0.13$, $p < 0.001$). Locus 3G04 showed a strong heterozygosity deficit in both species ($F_{is} = 0.32$ for wild species and $F_{is} = 0.22$ for cultivated species, $p < 0.001$).

Assignment of pre-ennobled yams. The nine pre-ennobled tubers were assigned using the STRUCTURE program. A stable ancestry estimate value (q) was obtained in five independent runs. The two groups obtained were closely consistent with the taxonomic classification (Figure II-4). Ninety-nine percent of the wild samples clustered in group 1 and 86% of cultivated samples clustered in group 2. We considered that groups 1 and 2 represented *D. abyssinica* and *D. rotundata*, respectively. Three cultivated plants were assigned to the wild group (*D. abyssinica*). One cultivated plant and one wild plant had admixed ancestry in the two groups (Table II-2).

Out of the nine pre-ennobled yams, four presented strong ancestries in the wild group and were interpreted as immigrants. Five pre-ennobled yams had admixed ancestry in the two

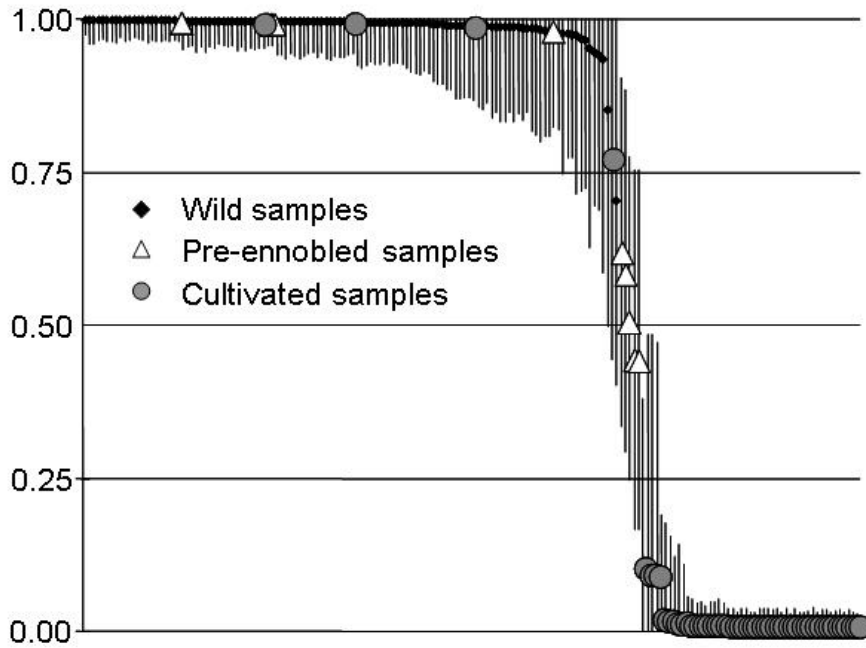


Figure II-4. Assignment of yam samples to wild and cultivated species. For each individual, q values were calculated with STRUCTURE, assuming $K=2$. The 95% confidence intervals were calculated by assuming a migration rate of 0.01. With a threshold of 0.8, two groups appeared: the *D. rotundata* group ($0 < q < 0.2$) in which only cultivated yams clustered, and the *D. abyssinica* group ($0.8 < q < 1$) where all the wild yams clustered.

Individual	Assumed population	q value	Alternative population	p values to cluster in the alternative population		
				Generation 0	Generation -1	Generation -2
<i>Pre-ennobled samples</i>						
D652	Wild	0.51	Cultivated	0.00	0.97	0.03
D671	Wild	0.44	Cultivated	0.00	0.94	0.06
D674	Wild	0.58	Cultivated	0.00	0.29	0.58
D675	Wild	0.62	Cultivated	0.00	0.30	0.58
D676	Wild	0.45	Cultivated	0.00	0.94	0.06
<i>Wild sample</i>						
A549	Wild	0.70	Cultivated	0.00	0.001	0.40
<i>Cultivated sample</i>						
CR654	Cultivated	0.23	Wild	0.28	0.28	0.07

Table II-2. Ancestry analysis of samples with an admixed genotype. This analysis was done with STRUCTURE, for $K=2$ and using a migration rate of 0.01. For each sample, q values gave the probability of being assigned in the assumed population. The probability of coming from the alternative population was calculated at generation 0 (direct immigrant), -1 (one parent) and -2 (one grandparent). For example, the pre-ennobled sample D652 was assigned in the wild population with $q=0.51$. This individual had a probability $p=0.00$ of coming from the cultivated population. The probabilities were 0.97 and 0.03 that this individual had a single parent or grandparent, respectively, in the cultivated population.

wild and cultivated groups. The ancestry analysis (Table II-2) showed that these five samples had a high probability that one of their parents and/or grandparents came from the cultivated species. This analysis suggested that these samples are *D. abyssinica* x *D. rotundata* hybrids. To confirm that our methodology (sampling size, number of loci, Bayesian assignment method) is powerful enough to reliably detect hybrid genotypes, we created one hundred hybrid genotypes from two plants randomly drawn from the wild and cultivated yam populations. We assigned these simulated hybrids using STRUCTURE. All the simulated hybrids were detected with admixed ancestry (mean $q = 0.52$ with a 95% confidence interval = 0.36-0.69). We also confirmed that there was a high probability that the simulated hybrid genotypes had a parent in each population (mean $p=0.85$), and there was a low probability that they were direct migrants (mean $p=0.01$).

The assignment of three cultivated plants to the wild *D. abyssinica* group means that *D. abyssinica* genotypes were present in the cultivated varieties. This suggested the successful ennoblement of *D. abyssinica* individuals. One of these individuals was the “Dompikou” variety. The farmer claimed that this variety was ennobled from a *D. abyssinica* tuber, and this was confirmed by the genetic analysis. No trace of the admixture of the “Ourou Yessingué” variety with wild tubers was found, possibly because of the small sample size.

We tested the reproducibility of these results by performing the assignment for $K=2$ to $K=8$, with five repetitions. The likelihood slightly increased, with K ranging from $K=2$ to 8, showing a plateau effect (18), but the assignment in wild and cultivated species did not significantly change. Using ΔK (19), the best estimation of group number that we found was for $K=2$. These groups corresponded to the two yam species and thus could be explained by their biological features. We also conducted five repetitions for $K=2$, removing the 3G04 locus that presented a high heterozygosity deficit. The pre-ennobled plant assignment did not change.

Study of hybridization. We performed a paternity analysis since the admixed ancestry observed for some plants in the above analysis suggested that there was some interspecific hybridization. Progenies of 7 *D. abyssinica* plants (102 seeds) and 7 cultivated mother plants (93 seeds) were genotyped at 11 microsatellite loci. Each mother plant was also genotyped.

We assessed the population of origin of the male parent of each offspring. The two reference populations of the wild and cultivated species were almost the same as those used in the

previous study. We only removed two plants that showed a hybrid genotype and four cultivated varieties clustering with the wild species *D. abyssinica*. The two reference populations consisted of 104 *D. abyssinica* and 42 *D. rotundata* genotypes. LOD score distributions obtained from simulated offspring created from *D. abyssinica* and from *D. rotundata* male plants did not overlap (Figure II-5). This allowed a good assessment of the origin of male gametes.

The assignment of male gametes to *D. abyssinica* or *D. rotundata* for each genotyped offspring was performed. For progeny of wild mother plants, 93.6% of the male gametes were assigned to the wild population and no male gamete was assigned to the cultivated population (Table II-3). For progeny of cultivated mother plants, 3.2% of the male gametes were assigned to the cultivated population and 77.4% were assigned to the wild population (Table II-3). The latter result showed that spontaneous interspecific hybridizations had occurred between wild and cultivated yams.

We considered that a gamete was not assigned to any population if its LOD score was less than 2.5% or more than 97.5% of the LOD score distribution. It could be expected that by chance alone 5% of gametes would not be assigned. For the progenies of wild mother plants, we found 6.4% non-assigned gametes, and this result was not significant (G-test, $p=0.413$). For the progenies of cultivated mother plants, 22% of the gametes were not assigned, which is a higher percentage than would be expected by chance (G-test, $p<0.001$). The observed LOD scores of these gametes were between the two LOD score distributions (male parents of cultivated and wild origin). One possible explanation for this pattern is that cultivated plants had hybridized with cultivated x wild hybrids. This hypothesis will need further analysis to be clearly established.

This analysis was performed on non-germinated seed. However, in other experiment, we seeded progeny of the wild and cultivated plants used in the previous analysis and monitored germination for 3 weeks. In this experiment, there were 16 seeds of each wild plant (total 112 seeds) in which we expected only wild x wild individuals, 16 seeds of each cultivated plant (total 112 seeds) in which we expected 78% wild x cultivated hybrids and 16 seeds of controlled cultivated x cultivated progeny in which we expected only cultivated x cultivated individuals. We observed germination of 88% of the wild plant progeny, 68% of the cultivated plant progeny and 56% of the controlled progeny. This suggested that cultivated and wild seeds, but also hybrids seeds, could germinate.

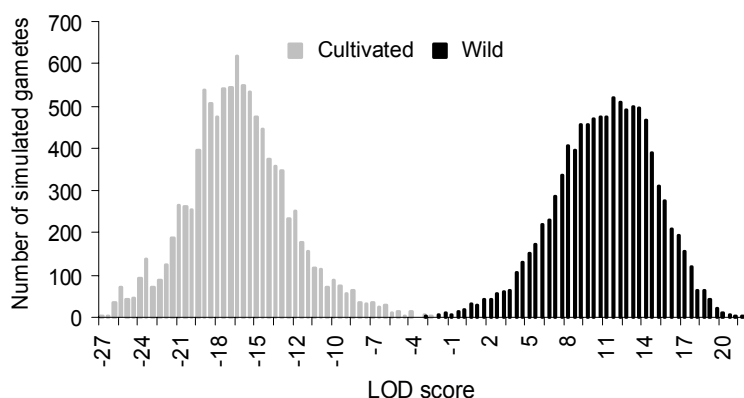


Figure II-5. LOD score distribution obtained by simulation.

The LOD score corresponds to the logarithm of the ratio of likelihood that the male parent originated from the wild group (*D. abyssinica*) by the likelihood that the male parent originated from the cultivated group (*D. rotundata*). In this example, the mother plant is from the cultivated group. Offspring were created using a randomly selected father in the wild group (black bars, 10 000 offspring) or in the cultivated group (grey bars, 10 000 offspring).

Offspring whose male parent was assigned to	Female parent	
	wild	cultivated
Wild population	95	68
Cultivated population	0	3
Not assigned	7	22
Total	102	93

Table II-3. Paternal origin of progeny of sympatric wild and cultivated yams.

Ninety-three seeds of the progeny of 7 cultivated yams (*D. rotundata*) and 102 seeds of the progeny of 7 wild yams (*D. abyssinica*) were analysed. The male parent was not assigned if its probability of coming from each population was lower than 0.025 or higher than 0.975.

Large-scale analysis. *Genetic diversity of wild and cultivated yams.* Eleven microsatellite loci were amplified in a total of 160 samples (71 *D. abyssinica*, 33 *D. praehensilis* and 56 *D. rotundata*) collected in different regions of Benin, revealing 196 alleles. Four percent of these alleles were specific to *D. rotundata*, 11% to *D. praehensilis* and 34% to *D. abyssinica*. The mean number of alleles ranged from 5.9 to 11.4 (Table II-4). The expected heterozygosity ranged from 0.53 to 0.71 and the observed heterozygosity from 0.51 to 0.67. F_{st} were calculated between the three species and between pairs of species. The global differentiation was high and highly significant ($F_{st}=0.18$, $p<0.001$). There was significant differentiation between *D. rotundata* and *D. abyssinica* ($F_{st}=0.24$, $p<0.001$), between *D. rotundata* and *D. praehensilis* ($F_{st}=0.18$, $p<0.001$) and between *D. abyssinica* and *D. praehensilis* ($F_{st}=0.10$, $p<0.001$). All species, *D. abyssinica*, *D. praehensilis* and *D. rotundata*, showed a heterozygosity deficit ($F_{is}=0.12$, 0.11 and 0.05, respectively, $p<0.001$). Two loci (2E07 and 3G04) showed a strong heterozygosity deficit in the three species ($F_{is}\geq 0.2$ for 2E07 and $F_{is}\geq 0.33$ for 3G04).

Assignment of pre-ennobled yams. The 30 pre-ennobled tubers were assigned in one of the three species, *D. abyssinica*, *D. praehensilis* and *D. rotundata*, using STRUCTURE. A stable ancestry estimate value (q) was obtained with five independent runs. The three groups obtained were highly consistent with the botanical classification (Figure II-6a). Ninety-seven percent of the *D. abyssinica* samples clustered in group 1, 82% of the *D. praehensilis* samples clustered in group 2 and 93% of the *D. rotundata* samples clustered in group 3. Since the groups were extremely homogenous with respect to species, we considered that groups 1, 2 and 3 represented *D. abyssinica*, *D. praehensilis* and *D. rotundata*, respectively. A discrepancy between the taxonomic classification (made at collection time) and the genetic classification was noted for two samples collected as *D. praehensilis* but which clustered with the *D. rotundata* group, and for one sample of the cultivated variety that clustered with the wild group of *D. praehensilis*. Nine individuals collected in the wild and cultivated populations had admixed ancestry in two groups. Five could be considered as *D. abyssinica* x *D. rotundata* hybrids, three as *D. praehensilis* x *D. rotundata* hybrids and one as a *D. abyssinica* x *D. praehensilis* hybrid.

Out of the 30 pre-ennobled yams, 4 (13%) were assigned to the *D. abyssinica* group and 4 (13%) to the *D. praehensilis* group (Figure II-6b). These samples were interpreted as immigrants. Eleven (37%) pre-ennobled yams had admixed ancestry and were considered to be hybrids. Out of these 11 samples, 4 corresponded to *D. abyssinica* x *D. rotundata* hybrids

	<i>D. abyssinica</i>	<i>D. praehensilis</i>	<i>D. rotundata</i>
Analysed samples	71	33	56
Alleles per locus	11.4	9.6	5.9
He	0.71	0.74	0.53
Ho	0.63	0.67	0.51

Table II-4. Diversity analysis of the cultivated species (*D. rotundata*) and the two wild species (*D. abyssinica* and *D. praehensilis*) in the large-scale analysis.

Mean number of alleles observed after correction (calculation based on a sample size of 32 individuals), genetic diversity (He) and observed heterozygosity (Ho) were calculated for each species.

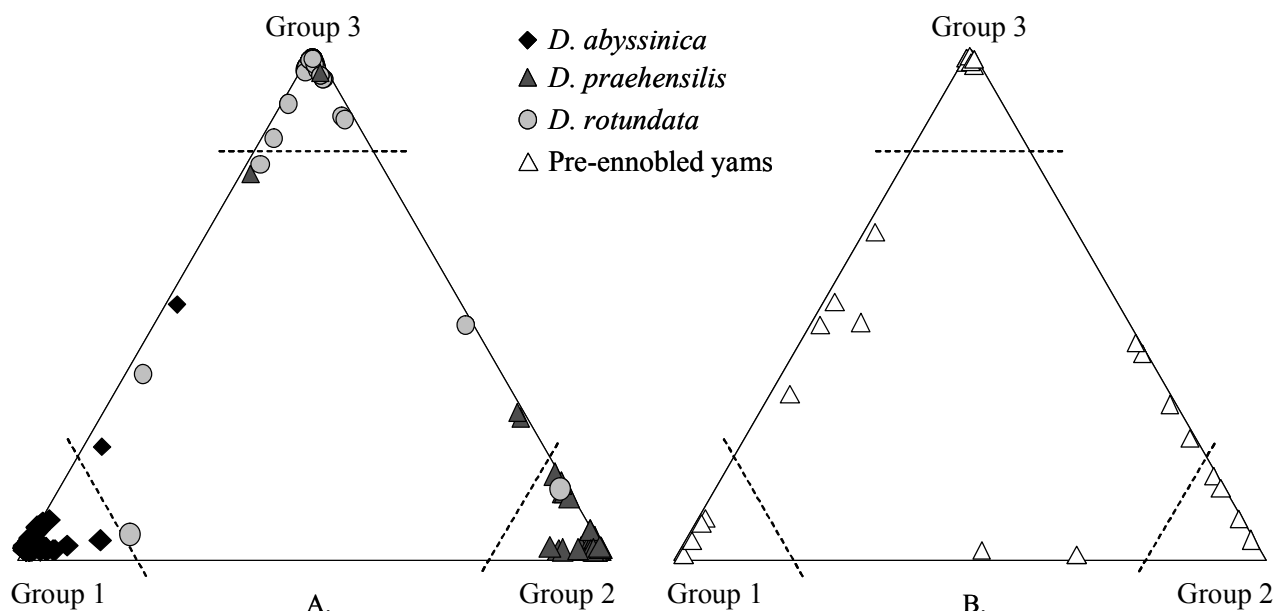


Figure II-6. Assignment of pre-ennobled yams from the large-scale analysis.

For each individual, q values were calculated with STRUCTURE, assuming $K=3$. The analysis was performed using no previous information on the plant origins and with all the samples (56 cultivated plants, 33 *D. praehensilis* plants, 71 *D. abyssinica* plants and 30 pre-ennobled plants). For legibility, we separately plotted the two wild groups and the cultivated group (A) and the pre-ennobled yams (B). Considering a threshold of 0.8 (dashed line), we defined three groups corresponding to *D. abyssinica* (wild group 1), *D. praehensilis* (wild group 2) and *D. rotundata* (cultivated group 3). The origin of the pre-ennobled yams (B) was diverse, some originated from one of the two wild groups and the cultivated group, others had an admixed origin.

and 5 to *D. praehensilis* x *D. rotundata* hybrids. Two samples showed ancestry in both of the wild species. Finally, 37% of the pre-ennobled yams were assigned to the *D. rotundata* group. In the village-scale analysis, the ancestry analysis confirmed the wild, cultivated or hybrid origin of these pre-ennobled samples (results not shown). Pre-ennobled yams that presented a wild or a hybrid genotype were found in the four ethnic groups analysed.

The assignment of one cultivated variety to the wild group *D. praehensilis* means that the *D. praehensilis* genotype was present in the cultivated varieties. This suggested the successful ennoblement of *D. praehensilis* individuals. This individual was the “Gban” variety. Farmer presented this variety as ennobled from *D. praehensilis*. The genetic analysis confirmed the farmers’ statement. To conduct a more in-depth analysis of this variety, we sampled nine tubers of the “Gban” variety in six different villages. Three samples were identical to the first analysed sample with respect to the 11 analysed loci, and were collected in three different villages. The other six individuals were genetically different from each other. We assigned these individuals using the same procedure as used for pre-ennobled yams. Seven samples were assigned to the *D. praehensilis* group and two could be considered as *D. praehensilis* x *D. rotundata* hybrids. These results indicated that the “Gban” variety is an admixture of several independent ennoblements. On the other hand, the presence of the same genotype in different villages suggested that ennoblement products could have circulated between villages.

To test the reproducibility of these results, we performed the assignment for $K=3$ to $K=8$ with five repetitions for each K . As in the village-scale analysis, the likelihood slightly increased with K , from $K=3$ to 8, but the assignment of pre-ennobled samples did not significantly change. Using ΔK (19), we found that the best estimation of group number was for $K=3$. These groups corresponded to the three yam species and thus could be explained by their biological features. We also performed five repetitions for $K=3$, while removing loci 2E07 and 3G04, which presented a high heterozygosity deficit. The pre-ennobled plant assignment did not change.

Discussion

Sexual reproduction and ennoblement. We analysed the ennoblement process in the village of Gorobani. In this village, we collected wild, cultivated and pre-ennobled yams. We

characterized the diversity of local varieties and local wild populations in which farmers selected yams for ennoblement. Assignment of pre-ennobled yams was thus very efficient. We showed that farmers voluntarily introduce yams in their field that have a signature of wild and wild x cultivated hybrid origin. This raised the question as to whether any interspecific hybridization had occurred. We performed a paternity analysis to answer this question. We obtained genetic evidence of spontaneous hybridizations between *D. abyssinica* and cultivated yams. Cultivated yams are preferentially pollinated by wild yams while wild yams reproduce together. This leads to hybrid seeds. Several different explanations could explain why such an asymmetric gene flow is observed: higher number of pollinating wild plants, lower quality and efficiency of pollen in the vegetatively cultivated species or non-synchronisation of flowering between male and female in the cultivated species *D. rotundata* (20). As DNA was extracted on only non-germinated seeds, we have no data on the viability of these hybrids. However, the test of germination suggested that hybrids could germinate. Moreover, as some hybrid genotypes were found in pre-ennobled yams, this gives an indirect support to a possible germination of hybrids and their survival in the savannah.

To assess if the selection of wild or hybrid genotypes for ennoblement was specific to the village of Gorobani, we performed the same analysis at large scale. We considered eight different villages, corresponding to four different ethnic groups. For this analysis, we did not consider any potential geographical differentiation. Indeed, such differentiations were considered for the STRUCTURE analysis (K=4 to K=8), but as the assignment did not change, we concluded that potential differentiation did not influence our results. Results obtained in the village-level analysis were confirmed in the large-scale analysis. In the eight studied villages, farmers also select wild and hybrid yams for ennoblement.

Since ennoblement is a very long process, we could not monitor pre-ennobled tubers from the time they are selected until they are cultivated. To assess if ennoblement successfully introduces wild and hybrid genotypes in the cultivated pool, we analysed a large sample of cultivated yams. In the village-level and the large-scale analysis, we found nine cultivated samples showing a signature of wild (*D. abyssinica* or *D. praehensilis*) or hybrid (*D. abyssinica* x *D. rotundata* or *D. praehensilis* x *D. rotundata*) origin. The geographical location of these samples was consistent with the ecological distribution of the wild species from which presumably originated. Indeed, cultivated accessions showing a *D. praehensilis* or *D. rotundata* x *D. praehensilis* hybrid genotype were found in southern Benin. Cultivated accessions showing a *D. abyssinica* or *D. abyssinica* x *D. rotundata* hybrid genotype were found in northern and central Benin. This suggests that the wild and hybrid genotypes

detected in the cultivated pool were locally ennobled from wild relatives or hybrids with these relatives.

Based on these results, we conclude that the ennoblement process actually succeeds and leads to the integration of new genotypes in cultivated varieties. We showed that it occurs in different ecological and ethno-linguistic regions. This practice involves two wild species (*D. abyssinica* and *D. praehensilis*) with different geographical distributions, and leads farmers to integrate, in the cultivated yam pool, wild genotypes and hybrids between wild and cultivated species.

A large share of the pre-ennobled tubers (37%) had cultivated genotypes. The fact that two accessions (P413 and P431) sampled as wild plants were found to have ancestry in the cultivated group suggests that cultivated genotypes could survive in a wild environment and could then be selected for ennoblement by farmers. These cultivated genotypes could be volunteers or progenies of cultivated varieties. Indeed, in the paternity analysis, we observed three spontaneous hybridizations within the *D. rotundata* species (LOD score probability of originating from the cultivated group ranging from 0.42 to 0.86). Such crosses lead to new genetic combinations within the cultivated pool. As it was not possible to discriminate between volunteers and recombinant genotypes, we could not determine whether farmers selected progeny of cultivated varieties for ennoblement. In the same way, we were unable to determine whether *D. rotundata* genotypes had been introduced in the cultivated yam pool since we could not discriminate between a *D. rotundata* genotype introduced by ennoblement and all the other cultivated *D. rotundata* genotypes. This hypothesis does, however, seem reasonable. Since farmers succeed in ennobling wild yams, it is likely that they could succeed in ennobling cultivated yams.

In Benin, ennoblement is practiced by less than 5% of yam farmers (8). However, ennoblement has an impact beyond the fields of farmers who practice it, especially because of the substantial flow of yam tubers between farmers and villages (21). The results of our analysis of polymorphism in the “Gban” variety revealed that one clone, ennobled from the wild species *D. praehensilis*, was also present in the neighbouring villages. Overall, 8.9% of the cultivated samples analysed in the large-scale analysis had a wild or hybrid genotype. This demonstrates that ennoblement had a sizeable impact, even though we might have underestimated it because it was not possible to assess the ennoblement origin of *D. rotundata* genotypes.

Genetic consequences of farmers' use of sexual reproduction in yam. Wild yam ennoblement appears to be the only farmers' practice that spans two rare farmers' practice categories: a) practices involving the manipulation of wild crop relatives; and b) those that use sexual reproduction in vegetatively-propagated crops.

a) In a stimulating review, Wood and Lenné mentioned "the largely anecdotal nature of the evidence to support the direct involvement of farmers in the manipulation of wild relatives", and these authors were even critical of the most documented case, i.e. the use of teosinte by Mexican farmers (3). Few studies have documented the introduction of wild relatives by farmers in the cultivated pool (review in 2), and most of these studies have never provided any genetic evidence. In our study, we give genetic evidence that yam farmers select wild and hybrid yams, and that some cultivated plants clearly present a wild or hybrid signature.

b) Farmers' use of sexual reproduction was previously reported in other vegetatively propagated crops. In cassava (22), Amerindian tribes intentionally incorporated, in the cultivated pool, volunteers arising from sexual reproduction of cultivated plants. In potato, Quiros et al. (23) and Johns and Keen (24) noticed that some Andean farmers collected fruits on cultivated potatoes and planted the seeds. This is not common but Johns and Keen (24) also suggested that volunteers originating from seeds can grow in the fields and then could be selected and introduced in the cultivated pool by farmers. In yam, we showed that yam farmers introduced products of the sexual reproduction of wild and cultivated yams in the cultivated pool. The use of sexual reproduction of wild yams will increase the genetic diversity of cultivated yams by introducing new alleles.

Sexuality produces new genetic combinations by recombination during meiosis and by combining genes from both parents. We will not discuss the relative advantages of sexuality versus asexuality (for a review, see 25). However, most theoretical explanations in favour of sexuality imply that there is a relative long-term advantage: the future adaptation will be preserved thanks to diversity created by recombination. In contrast, asexuality has an immediate advantage as a suitable set of phenotypic/genetic characteristics is preserved.

The example of yam shows that through ennoblement farmers' management combines both sexual and asexual reproduction of vegetatively cultivated crops. Farmers could thus test and select new genotypes from the pool of new combinations produced by sexual reproduction. Then they could benefit from the long-term advantage of sexuality that may preserve future adaptations to different environments and farmers' pressures. They could also benefit from

the immediate advantage of asexuality by preserving their best genotypes from recombination.

Our study demonstrates, for a vegetatively propagated crop, that traditional farmers' practices preserve evolutionary processes and enhance genetic diversity (1). However, yam farmers are unaware of these theoretical considerations, so it is intriguing to know why such traditional practices have been maintained. This would be an essential question to address given the role of this practice in nurturing yam diversity. Moreover, it is crucial to preserve wild yam populations to develop suitable on-farm conservation schemes.

References

1. Brush, S.B. (2000) in *Genes in the fields: on-farm conservation of crop diversity*, eds. Brush, S.B. (Lewis publisher, Washington D.C.), pp3-26.
2. Jarvis, D.I., & Hodgkin, T. (1999) *Mol. Ecol.* **8**, S159-S173.
3. Wilkes, H.G. (1977) *Econ. Bot.* **31**, 254-293.
4. Robert, T., & Sarr, A. (1992) *Genome* **35**, 208-219.
5. Hamon, P., Dumont, R., Zoundjihèkpon, J., Tio-Touré, B., & Hamon, S. (1995) *Les ignames sauvages d'Afrique de l'ouest. Caractères morphologiques* (ORSTOM, Paris).
6. Terauchi, R., Chikaleke, V.A., Thottappilly, G., & Hahn, S.K. (1992) *Theor. Appl. Genet.* **83**, 743-751.
7. Coursey, D.G. (1976) in *Origin of African plant domestication*, eds Harlan, J.R., DeWet, J.M.J., & Stemler, A.B.L. (Aldine, Chicago), pp. 383-408.
8. Dumont, R., & Vernier, P. (2000) *Outlook on Agriculture* **29**, 137-142.
9. Vernier, P., Orkwor, G.C., & Dossou, A.R. (2003) *Outlook on Agriculture* **32**, 35-41.
10. Mignouna, H.D., & Dansi, A. (2003) *Genet. Resour. Crop Evol.* **50**, 519-528.
11. Chikwendu, V.E. & Okezie, C.E.A. (1989) in *Foraging and Farming: the evolution of plant exploitation*, eds Harris, D.R., Hillman, G.C. (Unwin Hyman, London), pp. 344-357.
12. Scarcelli, N., Tostain, S., Mariac, C., Agbangla, C., Daïnou, O., Berthaud, J., & Pham, J.-L. (in press) *Genet. Resour. Crop Evol.*
13. Dansi, A., Mignouna, H.D., Zoundjihèkpon, J., Sangare, A., Asiedu, R., & Robert, T. (1999) *Genet. Resour. Crop Evol.* **46**, 371-388.
14. Tostain, S., Scarcelli, N., Brottier, P., Marchand, J.L., Pham, J.L., & Noyer J.L. (in press) *Mol. Ecol. Notes*.
15. Scarcelli, N., Daïnou, O., Agbangla, C., Tostain, S., & Pham, J.-L. (2005) *Theor. Appl. Genet.* **11**, 226-232.
16. Goudet, J. (1995) *J. Heredity* **86**, 485-486.
17. Raymond, M., & Rousset, F. (1995) *J. Heredity* **86**, 248-249.
18. Pritchard, J.K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000) *Genetics* **155**, 945-959.
19. Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005) *Mol. Ecol.* **14**, 2611-2620.
20. Segnou, Fatokun, C.A., Akoroda, M.O., & Hahn, S.K. (1992) *Euphytica* **64**, 197-203.

21. Baco, M.N., Tostain, S., Mongbo, R.L., Daïnou, O., & Agbangla, C. (2004) *Plant Genetic Resources Newsletter* **139**, 17-23.
22. Elias, M., Panaud, O., & Robert, T. (2000) *Heredity* **85**, 219-230.
23. Quiros, C.F., Ortega, R., Van Raamsdonk, L., Herrera-Montoya, M., Cisneros, P., Schmidt, E., & Brush, S.B. (1992) *Genet. Resour. Crop Evol.* **39**, 107-113.
24. Johns, T., & Keen, S.L. (1986) *Econ. Bot.* **40**, 409-424.
25. Barton, N.H. & Charlesworth, B. (1998), *Science* **281**, 1986-1990.

C. Résultats complémentaires

Il existe de nombreuses méthodes d'assignation. Selon les simulations réalisées par Cornuet et al. (1999), les méthodes bayésiennes sont supérieures aux méthodes basées sur les fréquences, elles mêmes plus puissantes que les méthodes basées sur les distances. Cependant, les méthodes bayésiennes supposent que les populations respectent l'équilibre de Hardy-Weinberg. Or, les résultats présentés dans les articles précédents montrent que les populations sauvages et cultivées ne respectent pas cet équilibre. Nous avons donc choisi de vérifier la robustesse des assignations réalisées par STRUCTURE en comparant ces assignations avec les assignations réalisées par la méthode des fréquences et par la méthode des distances réalisées par GENECLASS2. La méthode des distances, a en effet l'avantage de ne pas nécessiter de respecter l'équilibre de Hardy-Weinberg même si elle est moins puissante. Nous avons choisi d'utiliser la distance de Cavalli-Sforza et Edwards (1967) car c'est la distance qui donne les meilleurs résultats dans les tests réalisés par Cornuet et al. (1999).

Nous avons aussi choisi de comparer les résultats obtenus par les marqueurs microsatellites avec les résultats obtenus par AFLP. Les assignations réalisées à partir des AFLP ont été faites graphiquement à partir des deux premiers axes de l'ACP. Cette méthode ne permet pas d'avoir de statistiques permettant de confirmer des résultats. Nous avons donc analysé les données AFLP avec le logiciel STRUCTURE. Ce logiciel n'est pas prévu pour utiliser spécifiquement des marqueurs dominants, cependant Pritchard et Wen (2003) estiment que sur un grand nombre de locus, les résultats peuvent être fiables.

L'ensemble des résultats d'assignation est présenté dans le Tableau II-5. La méthode bayésienne utilisée par STRUCTURE permet de mettre en évidence des individus hybrides alors que les autres méthodes assignent chaque individu à un seul groupe.

Dans un premier temps, on ne s'intéresse pas aux assignations réalisées avec la méthode bayésienne sur les AFLP. On observe (Tableau II-5) que lorsque les individus ne sont pas considérés comme hybrides avec STRUCTURE, les assignations obtenues par AFLP et microsatellites, et quels que soient les méthodes d'assignation, sont identiques. Lorsque les individus sont considérés hybrides avec STRUCTURE, les individus sont assignés à l'une des deux espèces correspondantes quels que soient les marqueurs et les méthodes utilisés.

Individus	AFLP		Microsatellite		
	Graphique	Bayésienne	Distance	Fréquences	Bayésienne
D31	Cultivé	Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D32	Cultivé	Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D34	Cultivé	Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D36	Cultivé	Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D38	Aby.	Aby. / Cultivé	Cultive	Aby.	Aby. / Cultivé
D116	Prae.	Prae.	Cultive	Prae.	Prae. / Cultivé
D176	Cultivé	Aby. / Prae.	Cultive	Cultive	Prae. / Cultivé
D177	Cultivé	Aby. / Prae.	Cultive	Cultive	Aby. / Cultivé
D178	Aby.	Aby. / Cultivé	Cultive	Aby.	Aby. / Cultivé
D180	Cultivé	Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D181	Cultivé	Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D182	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.
D184	Cultivé	Prae.	Cultive	Cultive	Cultivé
D185	Cultivé	Prae.	Cultive	Cultive	Cultivé
D186	Cultivé	Prae.	Cultive	Cultive	Cultivé
D187	Cultivé	Prae. / Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D191	Aby.	Aby. / Cultivé	Cultive	Cultive	Aby. / Cultivé
D192	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.
D195	Aby.	Aby. / Prae.	Prae.	Prae.	Aby. / Prae.
D198	Prae.	Prae.	Prae.	Prae.	Prae.
D200	Cultivé	Prae. / Cultivé	Cultive	Aby.	Aby. / Cultivé
D202	Cultivé	Prae. / Cultivé	Cultive	Prae.	Prae. / Cultivé
D204	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.
D206	Cultivé	Prae. / Cultivé	Prae.	Prae.	Prae. / Cultivé
D207	Cultivé	Cultivé	Cultive	Prae.	Prae. / Cultivé
D208	Prae.	Aby. / Prae.	Cultive	Prae.	Prae. / Cultivé
D213	Cultivé	Prae. / Cultivé	Cultive	Prae.	Prae. / Cultivé
D220	Cultivé	Cultivé	Cultive	Cultive	Cultivé
D222	Prae.	Prae.	Cultive	Prae.	Prae. / Cultivé
D223	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.	Aby.
D652	-	-	Cultive	Aby.	Aby. / Cultivé
D671	-	-	Cultive	Aby.	Aby. / Cultivé
D673	-	-	Aby.	Aby.	Aby.
D674	-	-	Cultive	Cultive	Aby. / Cultivé
D676	-	-	Cultive	Aby.	Aby. / Cultivé
D690	-	-	Aby.	Aby.	Aby.
D691	-	-	Aby.	Aby.	Aby.
D692	-	-	Aby.	Aby.	Aby.

Tableau II-5. Comparaison des assignations d'individus pré-ennoblis.

Les individus génotypés avec les AFLP ont été assignés de manière graphique à partir d'une ACP et de manière statistique à partir de la méthode Bayésienne de STRUCTURE. Les individus génotypés avec les microsatellites ont été assignés avec une méthode par distance (distance de Cavalli-Sforza et Edwards 1967, réalisé par GENECLASS2), par la fréquence (Paetkau et al. 1995, réalisé par GENECLASS2) et la méthode Bayésienne de STRUCTURE. Aby. = *D. abyssinica*, Prae. = *D. praehensilis*, Cultivé = *D. rotundata*. Pour la méthode Bayésienne, un individu dont les scores sont intermédiaires entre deux espèces est considéré hybride. Il est noté par exemple Aby. / Cultivé pour hybride entre *D. abyssinica* et *D. rotundata*.

On remarque que dans 27% des cas, l'assignation bayésienne réalisée sur les AFLP ne correspond pas aux résultats obtenus par les autres méthodes. Ceci est particulièrement vrai pour les individus considérés hybrides avec les microsatellites. En fait, la différenciation génétique entre les trois espèces *D. abyssinica*, *D. praeheasilis* et *D. rotundata*, révélée par microsatellite, est très forte puisque 50% des allèles révélés sont spécifiques à l'une des trois espèces. Au contraire, la différenciation obtenue par AFLP est faible puisque seuls 1% des marqueurs sont spécifiques à l'une des trois espèces. Cette différenciation ne semble pas suffisamment forte pour que la méthode bayésienne de STRUCTURE donne des résultats fiables.

Globalement, les résultats obtenus avec les microsatellites et avec chaque méthode d'assignation sont extrêmement similaires. Ceci nous permet de penser que, dans notre cas, l'assignation avec la méthode bayésienne de STRUCTURE est robuste, même si nos données ne respectent pas l'équilibre de Hardy-Weinberg. Il semble que la différenciation génétique soit suffisamment forte entre les trois espèces pour que chaque méthode, y compris les méthodes les moins puissantes, donne de bons résultats.

CHAPITRE II.

STRUCTURATION GENETIQUE ET GESTION

VARIETALE

La structuration de la diversité des plantes cultivées dans les agrosystèmes traditionnels dépend de deux facteurs principaux : le mode de reproduction de la plante et la gestion paysanne. Pour l'igname, ce terme "gestion paysanne" comprend à la fois la capacité des paysans à différencier leurs variétés, les différentes pratiques qu'ils mettent en œuvre pour éviter les mélanges de tubercules, les contraintes sociales qui régissent les flux de tubercules entre les paysans, le choix des paysans de cultiver chaque variété et en quelle quantité, la pratique de l'ennoblissement, etc.

A l'échelle du village, qui est celle que nous considérerons ici, il existe deux niveaux importants d'organisation de la diversité génétique : la variété et le paysan. En effet, chaque paysan gère dans son champ d'igname un pool génétique indépendamment des autres paysans (aux migrations près). Puis, à l'intérieur de son champ, chaque paysan gère ses variétés indépendamment les unes des autres. Nous nous intéresserons ici à ces deux niveaux d'organisation et nous verrons quelle diversité existe à ces deux niveaux et comment elle s'organise.

La vision conventionnelle de l'igname cultivée est celle d'une plante multipliée de façon strictement végétative, la mutation étant la seule source de diversité reconnue. En conséquence, les variétés ont toutes été considérées différentes génétiquement et monoclonales.

A partir des connaissances acquises par des études ethnobotaniques et des données obtenues dans le chapitre II, nous pouvons émettre plusieurs hypothèses quant à la diversité des ignames cultivées. Tout d'abord, la mise en évidence de l'intégration dans le pool cultivé de produits de reproduction sexuée par les paysans, *via* l'ennoblissement, et l'existence de flux de tubercules entre les paysans remettent en cause l'idée de variétés monoclonales. On s'attend désormais à observer des individus très différents génétiquement sous un même nom de variété. A ces deux pratiques créatrices de diversité au niveau variétal, s'oppose le fait que les paysans tentent d'éviter le mélange de tubercules différents dans une même variété, ce qui pourrait réduire la diversité observée dans les variétés.

Compte tenu de la gestion paysanne des variétés d'igname et du mode de reproduction mixte de la plante, on s'attend désormais à une structure génétique complexe des variétés :

- La multiplication asexuée crée des individus identiques génétiquement que nous appellerons "clones".

- La mutation crée des individus très proches génétiquement que nous regrouperons sous l'appellation "groupe de clones".
- La reproduction sexuée suivie de l'ennoblissement et les flux de tubercules entre les paysans introduisent des génotypes éloignés génétiquement des clones existants dans la variété.

On s'attend donc à trouver dans une même variété des clones (multiplication asexuée) répartis dans des groupes de clones (mutation) très différents génétiquement (reproduction sexuée, gestion paysanne).

Au niveau paysan, les études ethnobotaniques nous permettent d'émettre deux hypothèses :

Tout d'abord, en choisissant quelle variété il cultive et en quelle quantité, le paysan a, *a priori*, un impact direct sur l'organisation de la diversité dans son champ. Les paysans cultivent en effet certaines variétés en grande quantité et d'autres en faible quantité. Il y a peu de variétés cultivées en quantité intermédiaire. On attend donc une surreprésentation des variétés en faible et forte fréquences.

Ensuite, le fait que les paysans d'une même ethnie partagent les mêmes préférences variétales et l'existence de flux de tubercules entre les paysans sont susceptibles d'homogénéiser les pools génétiques cultivés dans différents champs. On attend donc une diversité génétique faiblement structurée entre les champs.

Dans cette partie, notre but sera d'analyser la structure et la diversité des d'ignames cultivées à deux niveaux : le paysan et la variété. Nous verrons ensuite ce que l'image obtenue révèle sur la gestion paysanne et la reproduction sexuée.

Nous avons choisi de limiter notre travail à un seul village et à une seule ethnie. D'une part, nous considérerons tous les tubercules cultivés sous un même nom par tous les paysans de l'ethnie. Nous parlerons alors de "variété-nom". D'autre part, nous considérerons tous les tubercules cultivés sous un même nom pour chaque paysan pris indépendamment. Nous parlerons alors de "variété-paysan". Cette distinction entre variété-nom et variété-paysan est importante car nous ne savons pas *a priori* si tous les paysans maintiennent les mêmes clones sous un même nom. Nous analyserons donc l'organisation de la diversité entre les variétés-nom puis à l'intérieur des variétés-nom, c'est-à-dire entre les variétés-paysan d'un même nom.

Nous essaierons de répondre aux questions suivantes :

1. Peut-on identifier les génotypes issus de reproduction sexuée et ceux issus de mutation ?
2. Les variétés-nom sont-elles différentes génétiquement ? Ces variétés-nom dérivent-elles les unes des autres par mutations ou correspondent-elles à des événements de reproduction sexuée différents ?
3. Les variétés-nom sont-elles monoclonales ? Si ce n'est pas le cas, la diversité de ces variétés-nom peut-elle s'expliquer uniquement par des mutations ?
4. Les variétés-paysan portant le même nom correspondent-elles à un même ensemble génétique ? En d'autres termes, deux paysans différents cultivent-ils les mêmes clones sous un même nom ?
5. Les variétés-paysan sont-elles monoclonales ? Si ce n'est pas le cas, la diversité de ces variétés-paysan peut-elle s'expliquer uniquement par des mutations ?
6. La diversité cultivée diffère-t-elle d'un paysan à l'autre ?
7. Enfin, observe-t-on l'impact des choix paysans (quantité de chaque variété cultivée) dans l'organisation de la diversité génétique à l'intérieur des champs d'igname ?

I. Matériel

L'ensemble du matériel et des informations ont été recueillis dans le village de Gorobani, au nord du Bénin (Figure 15).

A. Réseau de circulation des tubercules

Avant de réaliser l'échantillonnage destiné à l'analyse de la structure et de la diversité des variétés, nous avons enquêté sur les flux de tubercules auprès de quelques paysans. Notre but était de mettre en évidence des variétés ayant fait l'objet de mélange de tubercules de plusieurs paysans. Si on suppose que les variétés ne sont pas identiques génétiquement d'un paysan à l'autre, on attend une diversité génétique plus grande dans les variétés ayant fait l'objet d'un mélange que dans des variétés ayant fait l'objet d'une acquisition unique.

L'enquête a consisté à interroger quelques paysans sur chacune de leurs variétés, pour savoir de qui ils tenaient ces variétés et à qui ils en avaient donné des tubercules. Cette enquête s'est faite en collaboration avec M. Baco (INRAB) lors d'une mission réalisée en décembre 2003.

Dans un premier temps nous avons choisi des paysans avec lesquels nous avons déjà travaillé lors des échantillonnages précédents. Certains paysans pratiquent l'ennoblissement. Ils ont tous un grand nombre de variétés (14 variétés en moyenne par paysan contre 9 en moyenne par paysan dans le village d'après Baco 2000). Ensuite nous avons identifié les paysans les plus souvent cités en donneurs ou en receveurs de tubercules. Nous sommes allés interroger ces paysans afin de vérifier les données acquises. Au total, nous avons interrogé 30 paysans.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence que 16,5% des variétés-paysan avaient fait l'objet de mélange de tubercules d'origine différente. Ce chiffre varie de 0 à 46% selon les paysans. La majorité de ces variétés (81%) correspondent au mélange de tubercules

de deux paysans différents, généralement le père du paysan receveur et un autre paysan. Le maximum observé est le mélange de tubercules issus de cinq paysans différents.

B. Echantillonnage

1. Structure et diversité génétique des variétés

Le premier échantillonnage a servi à déterminer la nature mono- ou polyclonale des variétés d'igname et la nature des différences génétiques entre les variétés. Ce travail a été réalisé au niveau des variétés-nom puis des variétés-paysan.

Pour cela, nous avons sélectionné neuf paysans appartenant à l'ethnie Gando, parmi lesquels deux pratiquent actuellement l'ennoblissement. Excepté ces deux paysans, les autres ne se différencient pas des autres paysans de l'ethnie, ni par leurs pratiques ni par les variétés qu'ils cultivent. Nous avons collecté 19 variétés-paysan, correspondant à 10 variétés-nom. En nous appuyant sur l'enquête réalisée, nous avons échantillonné des variétés-paysan ayant fait l'objet de mélanges récents de tubercules et des variétés-paysan n'ayant pas fait l'objet de mélanges de tubercules afin de déterminer s'il y a une relation entre le mélange de tubercules et la diversité intra-variétale. Nous avons prélevé 30 individus par variété-paysan. L'échantillonnage n'est pas complètement aléatoire puisque nous avons laissé un minimum de 3 buttes par ligne entre chaque individu collecté. En effet, au moment d'ensemencer leur champ, les paysans coupent généralement les tubercules en 2 ou 3 morceaux et les plantent consécutivement sur une même ligne. En échantillonnant ainsi, nous avons essayé de ne pas augmenter artificiellement le taux de clonalité des variétés-paysan en ne prélevant pas des individus issus d'un même tubercule à cette génération. L'échantillonnage réalisé est indiqué dans le Tableau III-1, il a été réalisé lors d'une mission en août 2004.

2. Structure et diversité génétique des champs d'igname

Un second échantillonnage a été réalisé afin de déterminer (i) comment se structure la diversité dans les champs d'igname et (ii) si la diversité observée peut s'expliquer par un choix conscient du paysan. Nous avons choisi au hasard six des neuf paysans précédemment

Variété	Paysan	Nb. individus analysés	Nb. paysans donneurs
Ahimon	1	30	1
Baniakpa	1	30	1
Bonniwouré kétékoba	2	29	1
Bonniwouré wouloukaba	1	26	1
	2	24	2
Kagourou	1	22	2
	3	36	3
Kinkérékou	2	27	3
	4	17	1
	5	29	1
	6	15	1
	7	16	3
Kpakara	2	29	1
Kpouna	2	27	1
Moroko	1	25	3
	2	27	5
Sobasson	1	29	2
	8	27	1
	9	20	1

Tableau III-1. Echantillonnage réalisé pour analyser la diversité variétale des ignames cultivées.

L'échantillonnage s'est fait chez neuf paysans. Trente individus ont été initialement échantillonnés pour chaque variété-paysan. Le nombre d'individus indiqué correspond au nombre d'individus effectivement analysés, c'est-à-dire uniquement les individus ne présentant aucune donnée manquante sur l'ensemble des locus. Le nombre de paysans donneurs indique si les variétés ont fait l'objet de mélange de tubercules.

sélectionnés et nous avons prélevé de façon complètement aléatoire 50 individus par champ. Nous ne disposons pour ces individus d'aucune information sur leur appartenance variétale. Par contre, l'enquête nous a permis de savoir quelles variétés sont cultivées dans les champs analysés. Les paysans choisis ainsi que les caractéristiques de leurs champs sont indiqués dans le Tableau III-2. L'un de ces paysans pratique l'ennoblissement

C. Génotypage et identification des clones

Pour les deux échantillonnages, l'extraction, le génotypage et l'identification des clones se sont faits ensemble et de la même façon.

Nous avons collecté des jeunes feuilles que nous avons séchées dans du silica gel. L'ADN a été extrait sur des fragments de feuilles séchées. Tous les individus ont été génotypés avec 15 marqueurs microsatellites (1A01, 1D08, 1F08, 2C05, 2C12, 2D06, 2D08, 3B12, 3D06, 3F04, 3F10, 3F12, 3G04, YM13, et YM30, Mignouna et al. 2003 et Tostain et al. 2005). Trois locus (1C12, 2E07 et 2E09) ont été abandonnés en raison de problèmes d'amplification.

Deux locus (2C12 et YM30) se sont révélés monomorphes sur l'ensemble des individus génotypés. L'analyse finale a donc été réalisée sur 13 locus polymorphes. Seuls les individus ne présentant aucune donnée manquante ont été conservés pour l'analyse.

Chaque individu peut être identifié par son génotype multilocus. La comparaison des génotypes multilocus a permis de séparer les individus identiques. Les différents génotypes multilocus seront appelés clones. Par convention, on appellera "clone principal" un clone représenté par au moins deux individus identiques et "clone unique" un clone représenté par un seul individu.

Le type d'analyse envisagé demandait une grande précision dans la détermination des génotypes. Nous avons dû faire face à deux problèmes :

- Pour trois locus (2D08, 3F12 et 3G04), plusieurs génotypes indépendants réalisés sur plusieurs individus montraient des différences dans l'assignation des tailles alléliques. Ces différences mettaient toujours en jeu deux allèles très proches et un même individu présentait

Paysan	Nb. individus analysés	Nb. buttes dans le champ
1	50	2000
2	50	4000
4	40	9000
5	50	9500
7	45	2500
8	49	4000

Tableau III-2. Echantillonnage réalisé pour analyser la diversité génétique des champs d'ignames.

L'échantillonnage s'est fait chez six paysans, dont un pratiquant l'ennoblissement (paysan 2). Cinquante individus ont été initialement échantillonnés dans chaque champ. Le nombre d'individus indiqué correspond au nombre d'individus effectivement analysés, c'est-à-dire uniquement les individus ne présentant aucune donnée manquante sur l'ensemble des 13 locus. Le nombre de buttes indiqué pour chaque champ est approximatif.

l'un ou l'autre des allèles selon les analyses (locus 2D08 : allèles 351/352, 3F12 : allèles 162/163 et 164/165, 3G04 : allèles 319/320). La faible précision de l'assignation de taille pour ces allèles si proches, notamment pour les allèles de taille supérieure à 300pb, nous a conduit à considérer deux allèles comme un seul. Les incohérences d'assignation entre deux migrations différentes ont alors disparu.

- Un grand nombre d'individus correspondaient à des clones uniques. Ces individus différaient souvent des clones principaux par une seule répétition à un seul allèle. De plus, certains de ces individus présentaient des allèles très rares, certains n'étant observés que chez un seul individu. Ces différences et ces allèles rares pouvaient être de simples erreurs de génotypage. Tous ces individus ont donc été génotypés une seconde fois pour vérifier s'ils correspondaient réellement à un clone unique ou s'il s'agissait d'une erreur (PCR, migration, traitement automatique des données, etc.). Lorsque les génotypes ont été confirmés par la seconde analyse, ces individus ont été considérés comme des clones uniques. Lorsque les génotypes n'ont pas été confirmés dans la seconde analyse, deux cas se sont présentés. Premièrement, si le génotype obtenu dans la deuxième analyse correspondait à un clone principal, la deuxième analyse a été conservée et nous avons considéré la première analyse comme une erreur. Le taux moyen d'erreur observé par locus est de 2,7% (Tableau III-3). Des taux d'erreur similaires ont été rapportés pour des microsatellites et peuvent s'expliquer par des artéfacts d'amplification ou de migration, par la qualité et la quantité d'ADN utilisé, par des contaminations, par des erreurs de lecture et par différents autres problèmes liés au manipulateur (Bonin et al. 2004). Enfin dans un faible nombre de cas (0,8%) la première analyse n'a pas été confirmée mais la seconde analyse a donné un génotype correspondant à un nouveau clone unique. Dans ce cas, l'individu a été considéré comme un clone unique.

Locus	% d'erreur
2D06	0
2D08	5,8
1A01	2,1
2C05	2,1
3F04	1,1
3G04	3,7
3B12	2,7
1F08	1,6
1D08	2,1
3F10	1,1
3D06	1,6
3F12	2,1
YM13	9,0
Moyenne	2,7

Tableau III-3. Pourcentage d'erreur observé par locus.

Pour calculer ce taux d'erreur, 90 individus ont été génotypés deux fois sur chaque locus. Le taux d'erreur correspond au nombre d'allèles différent entre les deux génotypages. Le taux d'erreur du locus YM13 est particulièrement fort. Ceci est dû à un problème de migration lors du premier génotypage, réglé lors du deuxième génotypage.

II. Analyses génétiques

Bien qu'on ait mis en évidence l'utilisation de la reproduction sexuée de l'igname par les paysans, les tubercules sont majoritairement régénérés par multiplication végétative. Dans ces conditions, il y a, dans la plupart des cas, transmission de génotypes complets d'une génération à l'autre. Il est donc intéressant de travailler sur les génotypes multilocus pour comprendre comment se structure la diversité du compartiment cultivé.

A. Pouvoir de discrimination des marqueurs

Deux individus différents génétiquement peuvent présenter le même génotype multilocus sur un nombre j de locus. En effet, si ces locus sont très peu polymorphes, c'est-à-dire présentent peu d'allèles, la probabilité que deux individus apparaissent identiques à ces j locus est forte. Le pouvoir d'identifier de manière unique deux individus dépend du nombre j de locus, du nombre i d'allèles par locus, de la fréquence p_i de ces allèles et de la façon dont ces allèles sont combinés. Un estimateur du pouvoir de discrimination D des marqueurs a été proposé par Tessier et al. (1999) :

$$D = 1 - \sum_i p_i \frac{Np_i - 1}{N - 1}$$

avec N individus et i allèles en fréquence p_i .

Lorsque N tend vers l'infini, D est équivalent à la diversité génétique H_e . Le pouvoir de discrimination d'un marqueur dépend du nombre d'allèles et de leurs fréquences. Pour un même nombre d'allèles, le marqueur dont les fréquences alléliques seront les plus proches de l'équi-fréquence sera le plus puissant.

Sachant D , on peut calculer le nombre théorique d'individus différents génétiquement que j marqueurs ne permettent pas de distinguer. Ce nombre diminue lorsque D augmente. De

la même façon, on peut calculer le nombre théorique X d'individus différents génétiquement que la combinaison des marqueurs ne permet pas de distinguer. X se calcule selon :

$$X = \frac{N(N-1)}{2} \prod_j (1 - D_j)$$

avec j locus indépendants

B. Relation entre clones : arbres et réseaux

Afin de déterminer les relations qui existent entre les clones, nous avons dans un premier temps réalisé un arbre selon la méthode du Neighbor-joining (Saitou et Nei 1987) à partir de la matrice de distance génétique D_{sa} (Chakraborty et Jin 1993). La robustesse des branches a été testée par 1000 bootstraps avec POWERMARKER (Liu et Muse) et l'arbre consensus a été calculé avec le logiciel PHYLIP (Felsenstein 2005).

Cet arbre nous a permis de mettre en évidence des ensembles de clones proches génétiquement. Pour déterminer la proximité de ces clones au sein de chaque ensemble, nous avons construit un Minimum Spanning Network (MSN) avec le logiciel ARLEQUIN (Schneider et al. 2000). Le MSN correspond à un réseau d'haplotypes. Nous avons donc réduit les génotypes diploïdes obtenus à des génotypes haploïdes. Ceci a été possible car au sein de chaque ensemble, les clones étaient très peu différents génétiquement et ne se différenciaient jamais par les deux allèles d'un même locus. Nous avons donc supprimé pour chaque locus l'un des allèles, celui ne présentant aucune variation entre les différents clones de l'ensemble analysé. Le réseau obtenu sur les génotypes haploïdes correspond donc au réseau qui aurait été obtenu avec des génotypes diploïdes.

C. Structuration clonale

Nous avons précédemment décrit le F_{st} comme indice de structuration génétique. Selon l'estimateur de Weir et Cokerham (1984), le F_{st} permet d'estimer les différences de fréquences alléliques entre différentes populations. Dans notre cas, ce qui nous intéresse est

d'avoir un paramètre analogue au F_{st} qui permette d'estimer des différences de fréquences de génotypes entre différentes populations.

Dans un échantillon de n individus, on observe k clones, k variant de 1 (tous les individus sont identiques génétiquement) à n (tous les individus sont différents génétiquement). Le nombre d'individus correspondant au clone i est n_i . La fréquence du clone i dans la population est donc n_i/n .

Nous avons donc défini le CL_{st} , pour Clonal differentiation, comme :

$$CL_{st} = \frac{C_2 - C_3}{1 - C_3}$$

avec C_2 , la probabilité que deux clones soient identiques dans une même population et C_3 , la probabilité que deux clones soient identiques dans deux populations différentes.

Cette formule est analogue à celle du F_{st} de Weir et Cokerham (1984) :

$$F_{st} = \frac{\theta_2 - \theta_3}{1 - \theta_3}$$

avec θ_2 , la probabilité que deux allèles soient identiques dans une même population et θ_3 , la probabilité que deux allèles soient identiques dans deux populations différentes.

Le CL_{st} est donc analogue au F_{st} (Encadré II) et permet d'estimer la différence de fréquences génotypiques entre des populations. L'estimation de la valeur du CL_{st} peut être réalisée à l'aide des logiciels calculant le F_{st} . Pour cela, il suffit de considérer chaque individu comme un génotype monocus et haploïde, chaque allèle correspondant à un clone. Nous avons utilisé ce codage avec le logiciel FSTAT, qui calcule alors un " F_{st} " sur populations haploïdes (Weir 1996) correspondant à une estimation du paramètre CL_{st} .

D. Test d'Ewens-Watterson

Nous avons voulu savoir si le nombre de clones et leurs fréquences relatives dans le champ d'un paysan sont le reflet de ses choix variétaux. Une méthode est de considérer les

Encadré II

Signification biologique du CL_{st} .

On considère un modèle en île de n champs, chaque champ contenant N individus. Chaque individu est caractérisé par son génotype multilocus (13 locus), appelé clone. La proportion de migrants arrivant dans un champ à chaque génération est m .

On considère que m est faible. On considère que le taux de mutation multilocus, c'est-à-dire la somme des taux de mutation sur les 13 locus qui caractérisent un clone, est nul.

La probabilité que deux clones d'un même champ soient identiques au temps $t+1$ est C_{2t+1} et se calcule selon :

$$C_{2t+1} = (1-2m) \left[\frac{1}{N} + \left(1 - \frac{1}{N}\right) C_{2t} \right] + 2mC_{3t}$$

La première partie de l'équation correspond à la probabilité que deux clones échantillonnés dans un même champ proviennent du même champ $[1-2m]$ et soient identiques au temps $t+1$. Cette identité correspond à la probabilité que ces deux clones viennent d'un même clone $[1/N]$ ou qu'ils viennent de deux clones $[1-(1/N)]$ qui étaient identiques au temps t $[C_{2t}]$. La deuxième partie de l'équation correspond à la probabilité que deux clones échantillonnés dans un même champ ne proviennent pas du même champ $[2m]$ et soient identiques au temps t $[C_{3t}]$. On ne prend pas en compte ici la probabilité que les deux clones aient tous les deux migré dans un même champ car m étant faible, on considère m^2 négligeable.

La probabilité que deux clones de deux champs différents soient identiques au temps $t+1$ est C_{3t+1} et se calcule selon :

$$C_{3t+1} = \left(\frac{2m}{n-1} \right) \left[\frac{1}{N} + \left(1 - \frac{1}{N}\right) C_{2t} \right] + \left(1 - \frac{2m}{n-1}\right) C_{3t}$$

La première partie de l'équation correspond à la probabilité que deux clones échantillonnés dans deux champs différents proviennent d'un même champ $[2m/(n-1)]$ et soient identiques au temps $t+1$. L'identité correspond à la probabilité que ces deux clones viennent d'un même clone $[1/N]$ ou qu'ils viennent de deux clones $[1-(1/N)]$ qui étaient identiques au temps t $[C_{2t}]$. On ne prend pas en compte la probabilité que les deux clones aient migré car m^2 est considéré comme négligeable. La deuxième partie de l'équation correspond à la probabilité que deux clones échantillonnés dans deux champs différents proviennent de deux champs différents $[1-(2m/(n-1))]$ et soient identiques au temps t $[C_{3t}]$.

A l'équilibre, $C_{2t+1} = C_{2t}$ et $C_{3t+1} = C_{3t}$. On a alors :

Encadré II (suite)

$$C_2 - C_3 = \left[(1-2m) \left[\frac{1}{N} + \left(1 - \frac{1}{N}\right) C_2 \right] + 2mC_3 \right] - \left[\left(\frac{2m}{n-1} \right) \left[\frac{1}{N} + \left(1 - \frac{1}{N}\right) C_2 \right] + \left(1 - \frac{2m}{n-1}\right) C_3 \right]$$

$$C_2 - C_3 = (C_2 - C_3) \left(1 - \frac{1}{N}\right) \left(1 - 2m \frac{n}{n-1}\right) + (1 - C_3) \frac{1}{N} \left(1 - 2m \frac{n}{n-1}\right)$$

$$\frac{C_2 - C_3}{1 - C_3} \approx \frac{1}{1 + 2Nm \left(\frac{n}{n-1}\right)} \quad \text{pour } n \text{ grand et } m \text{ faible}$$

$$\text{Donc, } CL_{st} \approx \frac{1}{1 + 2Nm} \quad \text{pour } n \text{ grand}$$

Le modèle original de F_{st} décrit par Weir et Cokerham (1984) est un modèle en île de populations diploïdes échangeant à un taux m faible des individus et sans mutation. Les formules originales sont les mêmes que celles présentées ici en remplaçant :

C_2 par θ_2 , soit la probabilité que deux allèles d'une même population soient identiques,
 C_3 par θ_3 , soit la probabilité que deux allèles de deux populations différentes soient identiques,

N par $2N$. En effet, le modèle original est décrit pour des populations diploïdes alors que notre modèle est décrit pour des populations haploïdes.

Le F_{st} vaut :

$$F_{st} \approx \frac{1}{1 + 4Nm}$$

On voit donc que CL_{st} et F_{st} correspondent tous les deux à un rapport $1/(1+xNm)$.

tests de sélection dérivés des travaux d'Ewens (1972), développés pour tester si le nombre et la fréquence des allèles dans une population diploïde suivent un modèle neutre.

On considère un champ contenant N individus et un échantillon de n individus de ce champ. Tous les individus dont les génotypes sont identiques correspondent à un même clone.

La population suit un modèle de Wright-Fisher. Les clones présents au temps $t+1$ sont obtenus par échantillonnage des clones présents au temps t . Les générations ne sont pas chevauchantes. On considère qu'il n'y a pas de différences de valeurs sélectives entre les clones et donc que l'échantillonnage pour passer de t à $t+1$ est aléatoire. Dans ce cas, la fréquence des clones ne dépend que de la dérive et de la migration. On appelle ce modèle "modèle aléatoire".

On considère un taux μ' de création de nouveaux clones. Ce taux μ' prend en compte à la fois la création de clones par mutation (μ) et l'arrivée de clones par migration (m). On a donc $\mu' = \mu + m$. On considère que les clones créés par mutation ou arrivant par migration sont toujours différents des clones existant dans le champ. On considère que l'on est à l'équilibre mutation/migration/dérive. On considère N grand, μ , m et donc μ' faibles.

Dans un échantillon aléatoire de n individus, on observe k clones différents avec n_i le nombre d'individus correspondant au clone i . La somme des n_1 à n_k vaut n .

Selon la théorie d'échantillonnage développée par Ewens (1972), on peut calculer la probabilité d'observer k clones et que la répartition de ces clones soit $\{n_1, n_2, \dots, n_k\}$:

$$(1) \quad p(K = k) = \frac{n! \theta^k}{k! n_1! n_2! \dots n_k! S_n(\theta)} \quad \text{avec } S_n(\theta) = \theta(\theta+1)(\theta+2)\dots(\theta+n-1) \text{ et } \theta = 2N\mu'$$

Des détails sur l'obtention de cette formule par Ewens (1972) et sur son analogie avec notre modèle sont donnés dans l'Encadré III.

A partir de là, il devient possible de calculer la probabilité d'observer les différentes répartitions possibles sachant le nombre k de clones observés dans le champ (Ewens 2004) :

Encadré III

Théorie d'échantillonnage d'Ewens (1972)

On présente ici la théorie d'échantillonnage développée par Ewens (1972), telle qu'elle est présentée dans Ewens (2004), appliquée à nos données.

On considère un champ contenant N individus et un échantillon de n individus de ce champ. Chaque individu est caractérisé par son génotype multilocus (13 locus). Tous les individus dont les génotypes sont identiques correspondent à un même clone.

La population suit un modèle de Wright-Fisher, c'est-à-dire que les clones présents au temps $t+1$ sont obtenus par échantillonnage des clones présents au temps t avec remplacement complet des clones. On considère qu'il n'y a pas de différences sélectives entre les clones et donc que l'échantillonnage pour passer de t à $t+1$ est aléatoire.

On considère un taux μ' de création de nouveaux clones. Ce taux μ' prend en compte à la fois la création de clones par mutation (μ) et l'arrivée de clones par migration (m). On a donc $\mu' = \mu + m$. On considère que les clones créés par mutation ou arrivant par migration sont toujours différents des clones existant dans le champ. On considère N grand, μ , m et donc μ' faibles.

Dans un échantillon aléatoire de n individus, on observe k clones différents dont le nombre est $\{n_1, n_2, \dots, n_k\}$. La somme des n_1 à n_k vaut n . En d'autres termes, on observe n_1 individus correspondant au clone 1, ..., n_k individus correspondant au clone k .

La probabilité que deux clones pris au hasard soient identiques au temps $t+1$ ($F_{2\ t+1}$) vaut (Ewens 2004) :

$$F_{2\ t+1} = (1 - \mu')^2 \left[\left(1 - \frac{1}{N}\right) F_{2\ t} + \frac{1}{N} \right]$$

$F_{2\ t+1}$ correspond à la probabilité que les deux clones n'aient pas été créés au temps $t+1$ $[(1 - \mu')^2]$ et qu'ils soient identiques. Cette identité correspond à la probabilité que les deux individus proviennent d'un même clone $[1/N]$ ou qu'ils proviennent de deux clones $[1 - (1/N)]$ identiques au temps t $[F_{2\ t}]$.

A l'équilibre ($F_{2\ t+1} = F_{2\ t}$), F_2 vaut :

$$F_2 \approx \frac{1}{1 + \theta} \quad \text{pour } \mu'^2 \text{ négligeable et pour } 2\mu' \ll 1 \text{ et avec } \theta = 2N\mu'$$

La probabilité que trois clones pris au hasard soient identiques au temps $t+1$ ($F_{3\ t+1}$) vaut (Ewens 2004) :

Encadré III (suite)

$$F_{3,t+1} = (1-\mu')^3 \left[(N-2)(N-1) \frac{1}{N^2} F_{3,t} + 3(N-1) \frac{1}{N^2} F_{2,t} + \frac{1}{N^2} \right]$$

$F_{3,t+1}$ correspond à la probabilité que les trois clones n'aient pas été créés au temps $t+1$ $[(1-\mu')^3]$ et qu'ils soient identiques. Cette identité correspond à la probabilité que les trois individus proviennent d'un même clone $[1/N^2]$, qu'ils proviennent de deux clones $[3(N-1)/N]$ identiques au temps t $[F_{3,t}]$ ou qu'ils proviennent de trois clones $[(N-1)(N-2)/N^2]$ identiques au temps t $[F_{3,t}]$.

A l'équilibre ($F_{3,t+1}=F_{3,t}$), F_3 vaut :

$$F_3 \approx \frac{2!}{(1+\theta)(2+\theta)} \quad \text{pour } \mu'^2 \text{ négligeable et pour } 2\mu' \ll 1$$

En généralisant, on peut calculer la probabilité que i clones pris au hasard soient identiques au temps $t+1$ (Ewens 2004) :

$$F_{i,t+1} = (1-\mu')^i \left[(N-1)(N-2)\dots(N-i+1) \frac{1}{N^{i-1}} F_{i,t} + \text{Terme en } F_{i-1,t} + \dots + \text{Terme en } F_{2,t} \right]$$

Le terme en $F_{i,t}$ correspond à la probabilité que les i clones viennent de i clones identiques au temps t , le terme en $F_{i-1,t}$ à la probabilité que les i clones viennent de $i-1$ clones identiques au temps t , ...

A l'équilibre ($F_{i,t+1}=F_{i,t}$), F_i vaut :

$$F_i \approx \frac{(i-1)!}{(1+\theta)(2+\theta)\dots(i-1+\theta)} \quad \text{pour } \mu'^2 \text{ négligeable et pour } 2\mu' \ll 1$$

De la même façon, on peut calculer la probabilité d'observer une répartition particulière de clones. Par exemple, si on a 4 clones répartis en deux paires de clones identiques, $F_{2,2,t+1}$ vaut (Ewens 2004) :

$$F_{2,2,t+1} = (1-\mu')^4 \frac{1}{N^3} \left[(N-1)(N-2)(N-3)F_{2,2,t} + 2(N-1)(N-2)F_{2,1,t} + 3(N-3)F_{1,1,t} \right]$$

A l'équilibre, $F_{2,2,t}$ vaut :

$$F_{2,2} \approx \frac{3\theta}{(1+\theta)(2+\theta)(3+\theta)} \quad \text{pour } \mu'^2 \text{ négligeable et pour } 2\mu' \ll 1$$

Encadré III (suite)

En généralisant à toutes les conformations possibles avec k clones répartis selon $\{n_1, n_2, \dots, n_k\}$, on trouve (Ewens 2004) :

$$p(K = k) = \frac{n! \theta^k}{k! n_1 n_2 \dots n_k S_n(\theta)} \quad \text{avec } S_n(\theta) = \theta(\theta+1)(\theta+2)\dots(\theta+n-1)$$

A partir de cette formule, il est possible de calculer la probabilité d'observer chaque configuration $\{n_1, n_2, \dots, n_k\}$ sachant le nombre de clones k (Ewens 2004) :

$$p(n_1, n_2, \dots, n_k | k) = \frac{n!}{|S_n^k| k! n_1 n_2 \dots n_k}$$

avec $|S_n^k|$ le nombre de Stirling de premier ordre défini par Abramowitz et Stegun (1965).

On remarque que cette formule ne dépend que de n et de k et pas du taux de création de nouveaux clones μ .

Les formules originales sont les mêmes que celles présentées ici en remplaçant N par $2N$ et μ par μ . En effet, le modèle original décrit dans Ewens (2004) correspond au modèle Infinitely Many Alleles de Wright-Fisher pour une population diploïde de N individus, correspondant donc à $2N$ allèles. Dans notre cas, nous travaillons avec des populations haploïdes de N individus, correspondant donc à N clones.

De plus, le modèle original ne prend en compte que la mutation μ . La migration est considérée nulle. Si on considère que ce taux de migration n'est pas nul mais faible, alors le terme θ est égal à $2N(\mu+m(1-r))$, r correspondant au ratio des probabilités d'identité d'un allèle provenant de deux populations et d'une même population (Slatkin 1982). r dépend de m , μ et du nombre de populations. Or, selon Slatkin (1982), si m est faible, la probabilité d'identité de deux allèles provenant de deux populations différentes va être faible par rapport à celle de deux allèles provenant de la même population. r devient alors négligeable et θ devient égal à $2N(\mu+m)$. Dans ce cas l'effet de la migration devient assimilable à l'effet de la mutation, on peut donc considérer un seul terme $\mu' = \mu + m$. Selon Slatkin (1982), la théorie d'échantillonnage développée par Ewens (1972) est applicable dans le cas d'un taux de migration faible.

$$(2) \quad p(n_1, n_2, \dots, n_k | k) = \frac{n!}{|S_n^k| k! n_1 n_2 \dots n_k}$$

avec $|S_n^k|$ le nombre de Stirling de premier ordre défini dans Abramowitz et Stegun (1965).

A partir de cette formule, on est en mesure de déterminer la probabilité d'observer une répartition particulière, sachant le nombre de clones et en supposant un modèle aléatoire. Il devient donc possible de déterminer si la répartition observée est attendue sous un modèle aléatoire. Si ce n'est pas le cas, cela indique que certaines hypothèses qui sous-tendent le modèle (ex. équilibre mutation/migration/dérive, taux de migration et mutation faibles), et notamment l'hypothèse de non sélection, ne sont pas respectées.

Le test qui permet de déterminer si la répartition observée est attendue sous un modèle aléatoire est basé sur la statistique f (Watterson 1978). f est définie comme la probabilité que deux clones pris au hasard dans un champ soient identiques :

$$f = \sum x_k^2$$

avec x_k , la fréquence de chaque clone k .

On est donc en mesure de calculer le $f_{\text{observé}}$ pour la répartition observée et, à partir de l'équation (2), on peut calculer la distribution des f_{attendus} sous un modèle aléatoire. En remplaçant le $f_{\text{observé}}$ dans la distribution des f_{attendus} , on peut déterminer si le $f_{\text{observé}}$ correspond à une répartition des clones attendue sous un modèle aléatoire ou non. On attend que toute sélection qui égalise les fréquences des clones diminue la valeur de f par rapport à l'attendu. Au contraire, toute sélection qui favorise un clone va augmenter la valeur de f par rapport à l'attendu.

Ce test est appelé test de Ewens-Watterson. A l'origine il a été développé pour déterminer si la répartition des allèles dans une population diploïde correspondait à l'attendu sous un modèle neutre. Comme indiqué dans l'Encadré III, ce test est applicable à nos données car nous considérons chaque individu comme un génotype monolocus haploïde,

chaque allèle correspondant à un clone. Dans ce cas, le test permet de savoir si la répartition des clones correspond à l'attendu sous un modèle aléatoire.

Le test d'Ewens-Watterson a été réalisé avec le logiciel ARLEQUIN (Scheinder et al. 2000) pour tester si la répartition des clones dans chaque champ se conforme ou non au modèle aléatoire.

III. Résultats

A. Diversité génétique globale et puissance des microsatellites

La diversité révélée pour chaque échantillonnage par les 13 microsatellites utilisés est indiquée dans le Tableau III-4.

Dans les deux analyses, tous les locus sont en excès d'hétérozygotes excepté les locus 1A01 et 3G04. Pour le locus 3G04, un fort déficit d'hétérozygotes a déjà été observé dans d'autres échantillonnages de l'espèce cultivée *D. rotundata* et des espèces sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis* (Chapitre II) et pourrait s'expliquer par la présence d'allèles nuls. Cependant, la présence d'allèles nuls ne nous apparaît pas problématique dans le cadre de notre analyse multilocus. Les forts excès d'hétérozygotes observés pour les autres locus pourraient s'expliquer par le mode de propagation principalement végétatif de l'igname : Balloux et al. (2003) ont montré que des populations théoriques asexuées et partiellement asexuées maintiennent un grand nombre d'allèles pour un petit nombre de génotypes, et donc que le taux d'hétérozygotie est fort.

Pour les deux échantillonnages, le pouvoir de discrimination de chaque marqueur est proche du pouvoir de discrimination maximal attendu. En conséquence, la combinaison des 13 marqueurs permet, en théorie, de distinguer tous les individus différents génétiquement (Figure III-1).

B. Structure et diversité variétale : clones, mutations et reproduction sexuée

1. Diversité clonale et relation entre les clones

L'analyse à 13 locus de la diversité variétale (premier échantillonnage, 485 individus) a révélé 33 clones différents. Quinze clones sont représentés par plus d'un individu et sont

Locus	Echantillonnage des variétés (485 individus)						Echantillonnage des champs (284 individus)					
	Allèles	H _e	H _o	F _{is}	D	D _{max}	Allèles	H _e	H _o	F _{is}	D	D _{max}
1A01	2	0,05	0,05	0,012 ***	0,05	0,50	4	0,01	0,01	0,333 ***	0,01	0,75
1D08	6	0,70	0,86	-0,227 ***	0,70	0,83	10	0,71	0,93	-0,295 ***	0,71	0,90
1F08	3	0,52	0,86	-0,661 ***	0,52	0,67	5	0,51	0,84	-0,654 ***	0,51	0,80
2C05	8	0,67	0,95	-0,406 ***	0,67	0,88	11	0,69	0,97	-0,398 ***	0,69	0,91
2D06	5	0,59	1,00	-0,705 ***	0,59	0,80	9	0,62	1,00	-0,599 ***	0,62	0,89
2D08	5	0,65	0,84	-0,292 ***	0,65	0,80	9	0,62	0,78	-0,268 ***	0,62	0,89
3B12	5	0,62	0,89	-0,442 ***	0,62	0,80	6	0,54	0,73	-0,337 ***	0,54	0,83
3D06	5	0,74	1,00	-0,356 ***	0,74	0,80	5	0,72	0,99	-0,371 ***	0,72	0,80
3F04	4	0,61	0,79	-0,295 ***	0,61	0,75	7	0,56	0,70	-0,245 ***	0,56	0,86
3F10	6	0,68	1,00	-0,473 ***	0,68	0,83	9	0,70	0,99	-0,413 ***	0,70	0,89
3F12	2	0,50	0,95	-0,894 ***	0,50	0,50	4	0,50	0,92	-0,817 ***	0,50	0,75
3G04	3	0,51	0,05	0,895 ***	0,51	0,67	5	0,51	0,12	0,765 ***	0,51	0,80
YM13	4	0,57	0,84	-0,471 ***	0,57	0,75	7	0,63	0,82	-0,296 ***	0,63	0,86

Tableau III-4. Diversité révélée par les microsatellites utilisés pour l'échantillonnage des variétés (485 individus) et des champs (284 individus).

Pour chaque microsatellite on indique le nombre d'allèles observés, l'hétérozygotie attendue (H_e) et observée (H_o), le F_{is}, le pouvoir de discrimination (D) et le pouvoir de discrimination maximum (D_{max}). Les F_{is} ont été calculés et testés avec le test exact de GENEPOP (***) signifie p<0,001). D_{max} correspond au pouvoir de discrimination maximum attendu en supposant tous les allèles en équi-fréquence.

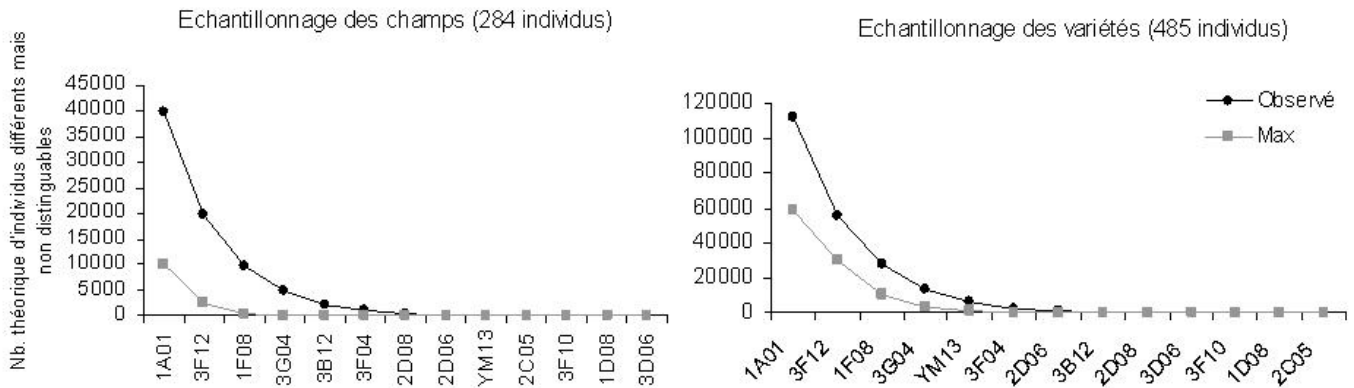


Figure III-1. Nombre théorique d'individus différents non distinguables avec les marqueurs utilisés.

Le nombre théorique d'individus différents non distinguables se calcule à partir du pouvoir de discrimination des marqueurs et dépend du nombre d'allèles et de la fréquence des allèles à chaque locus. Ces valeurs ont été calculées pour les valeurs de D observées et pour les valeurs de D_{max}, c'est-à-dire en considérant tous les allèles du locus équi-fréquents. De la gauche vers la droite, ces valeurs correspondent à la combinaison des différents locus.

appelés "clones principaux". Ces clones seront par la suite nommés par une lettre (A à O). Dix-huit clones sont représentés par un seul individu et sont appelés "clones uniques". Ces clones ne seront plus distingués individuellement par la suite et seront nommés par le terme générique "unique".

Les relations entre ces clones sont indiquées dans la Figure III-2. Six ensembles de clones génétiquement proches, nommés C1 à C6, apparaissent. Ces ensembles sont constitués d'au minimum un clone principal et un clone unique. On note la présence de quatre clones uniques très différents génétiquement de tous les autres clones et qui n'appartiennent à aucun des ensembles définis.

La proximité génétique des clones composant ces six ensembles se confirme par l'analyse du Minimum Spanning Network (MSN, Figure III-3). Pour chaque ensemble analysé, on remarque la présence d'un clone majoritaire en nombre et dont partent toutes les branches du réseau. Cette image correspond à ce que l'on attend dans le cas de clones dérivant par mutation d'un clone majoritaire. Les différences observées entre le clone majoritaire et les autres clones peuvent-elles s'expliquer par la mutation ?

Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons calculé la probabilité d'obtenir les clones d'un ensemble de clones par mutation du clone majoritaire et par un événement de reproduction sexuée, c'est-à-dire indépendamment du clone majoritaire. Pour calculer la probabilité que les clones d'un ensemble de clones soient apparus par mutation du clone majoritaire, nous avons utilisé les taux de mutation calculés chez des microsatellites de maïs et de blé (10^{-3} à 10^{-4} , Thuillet et al. 2002 et Vigouroux et al. 2002) en faisant l'hypothèse que les nouveaux allèles ont été créés par une seule mutation. Les valeurs obtenues varient de $2,6 \times 10^{-2}$ (1 mutation, taux de mutation 10^{-3}) à $2,6 \times 10^{-7}$ (2 mutations, taux de mutation 10^{-4}). Nous avons ensuite calculé la probabilité que les clones d'un ensemble de clones soient apparus par un événement de reproduction sexuée. A partir des fréquences alléliques, nous avons calculé la probabilité d'observer un génotype donné. Les valeurs obtenues sont faibles, de l'ordre de $2,7 \times 10^{-10}$. Le ratio de probabilité $p(\text{mutation})/p(\text{reproduction sexuée})$ vaut en moyenne de 10^5 . Il est donc plus probable que les différents clones d'un ensemble de clones soient apparus par mutation du clone majoritaire que par reproduction sexuée. Chaque ensemble, nommé C1 à C6, correspond donc à ce que nous avons appelé un "groupe de clones", c'est-à-dire des clones qui, selon notre hypothèse, dérivent les uns des autres par mutation.

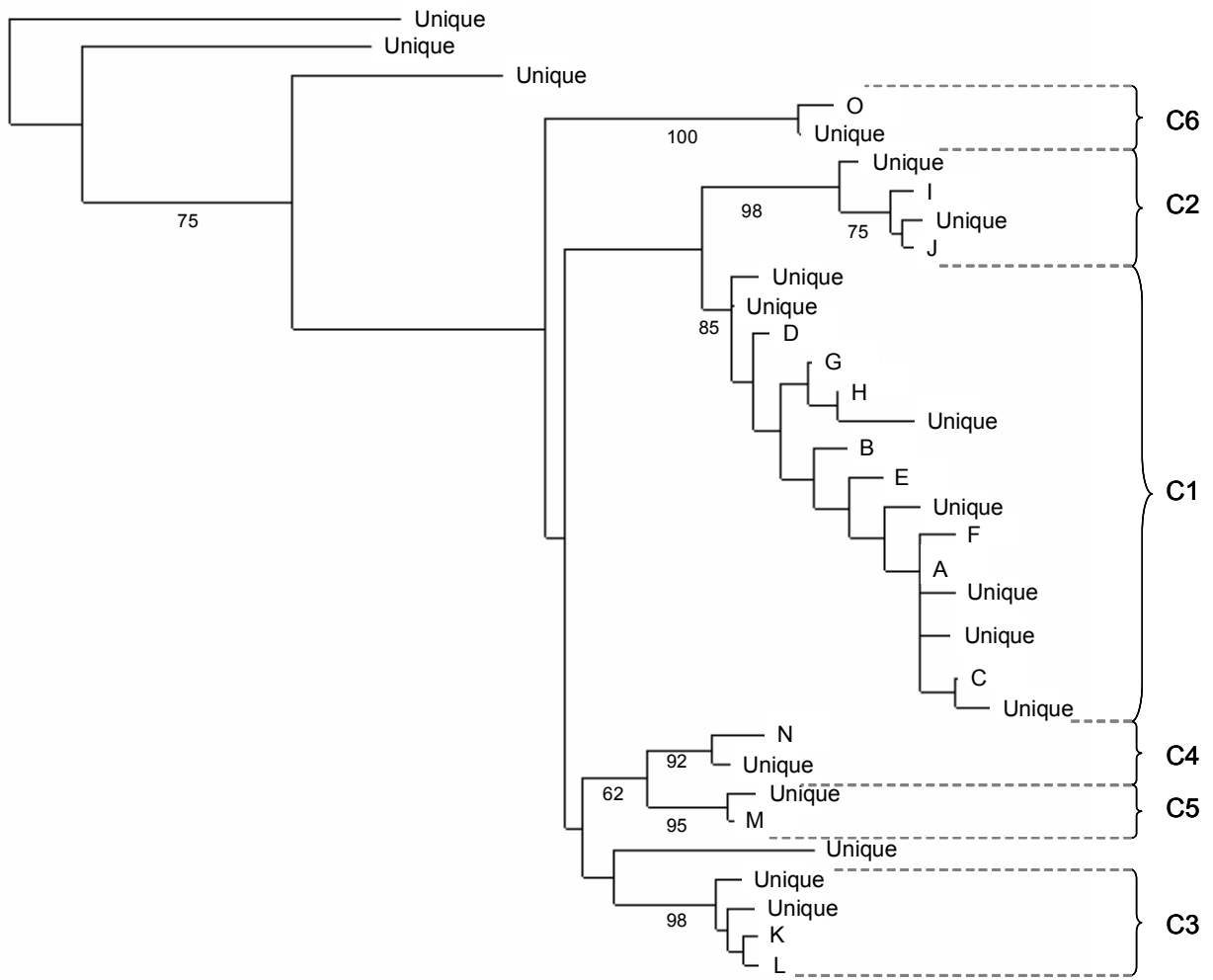


Figure III-2. Arbre consensus des clones obtenus dans l'échantillonnage des variétés. Cet arbre a été construit avec 1000 bootstraps à partir d'une matrice de distance génétique D_{sa} (méthode du Neighbor-joining). Les valeurs de bootstraps sont indiquées en pourcentage. Les clones sont repérés par une lettre (A à O) pour les clones principaux et par la notation "unique" pour les clones uniques. Les différents ensembles de clones proches génétiquement sont nommés C1 à C6.

La plupart des différences entre le clone majoritaire et les autres clones impliquent une modification de 2 à 8 bases, ce qui correspond aux patrons de mutation des microsatellites habituellement rencontrés chez d'autres espèces (ex. Huang et al. 2002). Cependant, il existe certains clones pour lesquels la modification dans les tailles alléliques est plus importante (plus de 15 bases). Même si de tels patrons de mutations ne sont pas courants, ils ont été observés chez d'autres espèces (Schlötterer et al. 1998, Huang et al. 2002, Vigouroux et al. 2002). De plus, il est possible que ces modifications importantes de tailles alléliques résultent de plusieurs mutations. Cette observation ne permet donc pas de rejeter l'hypothèse de l'apparition des clones d'un groupe de clones par mutation du clone majoritaire.

L'existence d'homoplasie dans les processus de mutation de microsatellites peut perturber les résultats que nous avons obtenus. L'homoplasie est définie comme l'existence de deux allèles identiques en l'état mais non identiques par descendance (Jarne et Lagoda 1996). On peut ainsi observer, par exemple, deux allèles différents à la génération t . L'un de ces deux allèles mute à la génération $t+1$ et se retrouve identique au deuxième allèle. Les allèles sont alors effectivement identiques en l'état mais pas par descendance. Dans notre cas, nous ne sommes pas en mesure de différencier ces deux types d'identité. Nous risquons donc de surestimer le nombre d'individus identiques. Cependant, pour que deux individus apparaissent identiques sur 13 locus uniquement en raison de l'homoplasie, il faut considérer que ces deux individus étaient très proches génétiquement avant la mutation. La possibilité d'homoplasie ne remet donc pas en question les conclusions données sur la proximité génétique des individus à l'intérieur des groupes de clones.

Chaque groupe de clones peut être considéré comme composé d'un clone majoritaire et de clones très peu différents apparus par mutations. Ces groupes de clones sont-ils apparus par mutation de l'un des groupes ou correspondent-ils à des événements de reproduction indépendants ?

L'analyse de l'arbre consensus (Figure III-2) montre que les groupes de clones sont fortement différenciés les uns des autres. De plus, ces groupes de clones sont différents les uns des autres par 13 allèles en moyenne (de 7 à 20 allèles différents sur les 26 analysés), soit en moyenne 50% des allèles. La probabilité que les clones majoritaires des groupes de clones C1 à C6 soient apparus par reproduction sexuée est en moyenne de $1,3 \times 10^{-10}$ (calcul à partir des fréquences alléliques). La probabilité que ces clones majoritaires soient apparus par mutation à partir de l'un des clones varie de $2,6 \times 10^{-21}$ (7 différences, taux de mutation 10^{-3} , en considérant une différence = une mutation) à $2,6 \times 10^{-80}$ (20 différences, taux de mutation 10^{-4}).

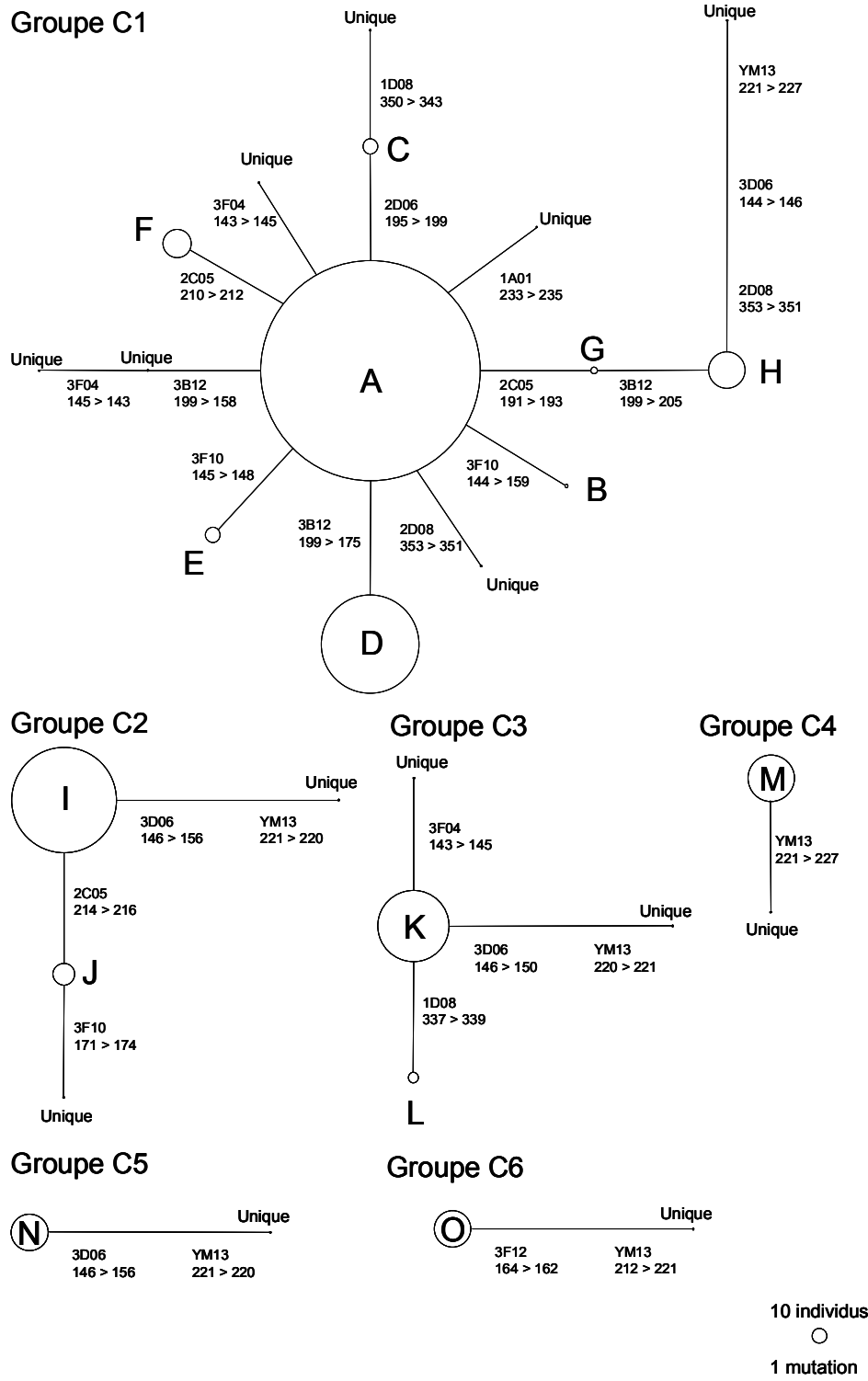


Figure III-3. Minimum Spanning Network (MSN) représentant les relations entre les clones spécifiques des groupes de clones obtenus dans l'analyse de la diversité des variétés. Les clones principaux sont représentés par une lettre (A à O) et les clones uniques sont indiqués par le terme "unique". Chaque différence est représentée par le nom du locus et les allèles qui diffèrent.

Le ratio de probabilité $p(\text{mutation})/p(\text{reproduction sexuée})$ vaut en moyenne de 10^{-35} . Il est donc plus probable que les 6 groupes mis en évidence dans cette analyse correspondent à 6 produits de reproduction sexuée. Un calcul similaire entre les groupes de clones et les 4 clones uniques qui ne se rapportent à aucun de ces groupes donne un résultat similaire : il est plus probable que ces 4 clones uniques soient apparus indépendamment des groupes de clones que par mutation de l'un de ces groupes. Cette analyse met donc en évidence l'existence de 10 produits de reproduction sexuée pour les 485 individus analysés.

En résumé, nos résultats suggèrent que la diversité des ignames cultivées se caractérise par des groupes de clones issus de reproduction sexuée, à l'intérieur desquels les clones évoluent par mutation.

2. Diversité génétique des variétés-nom

a. Différences génétiques entre les variétés-nom

La première question que nous nous sommes posée est de savoir si les différentes variétés-nom, telles quelles sont définies par les paysans, correspondent à des ensembles différents génétiquement. Si c'est le cas, nous nous demanderons si ces variétés-nom ont évolué par mutation d'une même variété-nom ou si elles ont été créées indépendamment par différents événements de reproduction sexuée.

L'arbre réalisé sur la matrice des distances (Figure III-4) permet de mettre en évidence les relations entre les différentes variétés-noms. Les quatre variétés-nom, Kpouna, Ahimon, Kpakara et Moroko, sont différentes génétiquement de toutes les variétés analysées, nous les nommerons par la suite V3 à V6. Les deux variétés-nom Bonniwouré kétékoba et Bonniwouré wouloukaba sont très proches génétiquement mais très différentes des autres variétés-nom. Nous nommerons ce groupe V2. Enfin, les quatre variétés-nom Baniakpa, Kagourou, Sobasson et Kinkérékou correspondent à un même groupe génétique et sont différentes des autres variétés-nom. Nous nommerons ce groupe V1. On voit donc apparaître 6 groupes de variétés-nom. Quatre correspondent à une seule variété-nom et deux au regroupement de plusieurs variétés-nom.

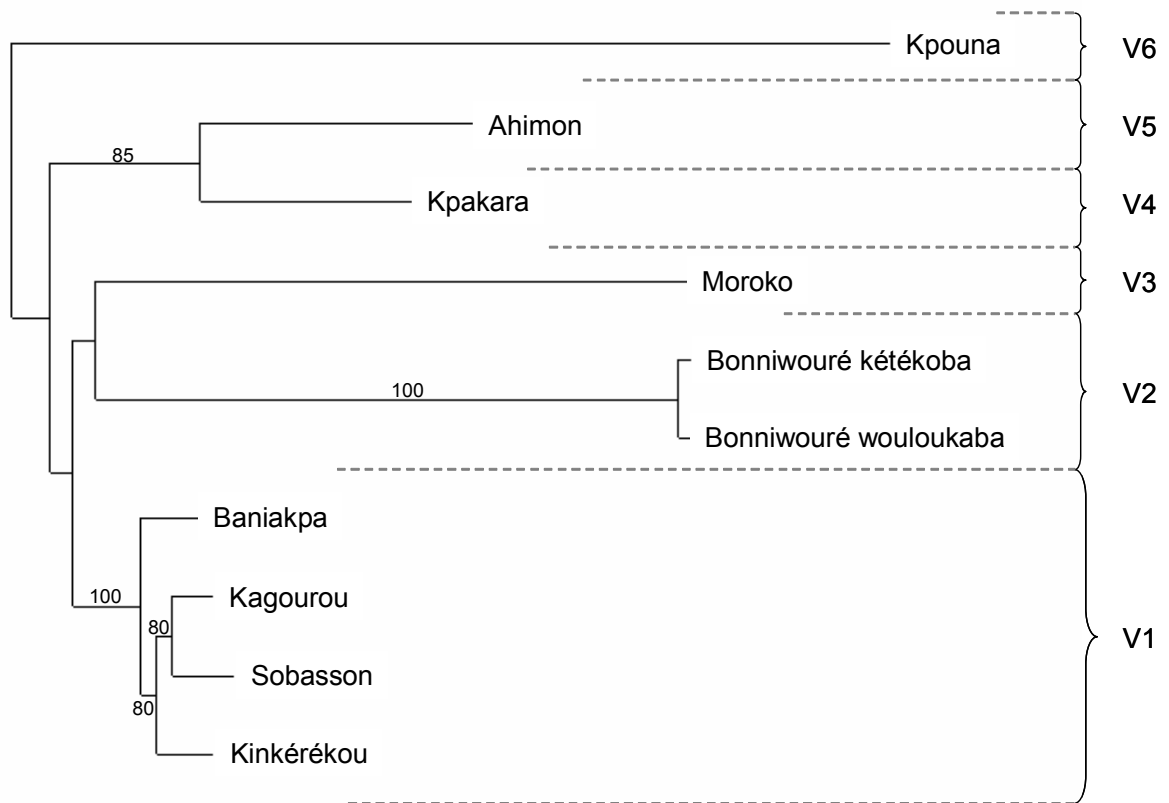


Figure III-4. Arbre consensus des variétés-nom.

Cet arbre a été construit avec 1000 bootstraps à partir d'une matrice de distance génétique D_{sa} (méthode du Neighbor-joining). Les différents ensembles de variétés-nom proches génétiquement sont nommés V1 à V6.

La répartition des clones dans les variétés-nom est indiquée dans le Tableau III-5. La répartition des clones uniques n'est pas indiquée dans ce tableau pour ne pas le surcharger. Cependant, ces clones uniques ont été pris en compte pour les analyses suivantes.

On remarque que les 6 groupes de variétés définis par l'arbre consensus (Figure III-4) correspondent aux 6 groupes de clones définis dans la partie précédente (Figure III-2 et III-3) : le groupe de variétés-nom V1 se compose en quasi-totalité de clones du groupe C1, le groupe de variétés-nom V2 se compose en quasi-totalité de clones du groupe C2, etc. On peut donc considérer que chaque groupe de clones est spécifique d'un groupe de variétés-nom. Compte tenu des conclusions données dans la partie précédente sur l'origine des groupes de clones, on peut considérer que ces 6 groupes de variétés-nom ont été créés à partir de 6 individus différents issus de reproduction sexuée.

On remarque aussi que les différentes variétés-nom de chacun des groupes V1 et V2 sont composées des mêmes clones. Ce résultat indique que, dans certains cas, les paysans nomment différemment des individus identiques génétiquement.

En résumé, nos résultats suggèrent que les variétés-nom d'igname ont été créées à partir d'individus issus de reproduction sexuée. Puis, à l'intérieur de chaque variété-nom, la diversité a probablement évolué par mutation. Cependant, certaines variétés-nom correspondent aux mêmes groupes de clones : dans ce cas, les noms donnés par les paysans sont synonymes d'un point de vue génétique.

b. Diversité génétique à l'intérieur des variétés-nom

Toutes les variétés-nom analysées, exceptée Kpakara, sont polyclonales (Tableau III-5). Dans la majorité des cas, deux clones suffisent à représenter 90% des individus. On observe donc peu de clones différents dans une variété-nom. De plus, dans une même variété-nom, la majorité des clones trouvés appartiennent au même groupe de clones et sont donc très proches génétiquement. Selon notre hypothèse sur l'évolution de ces groupes de clones, la diversité observée dans les variétés-nom peut s'expliquer en majeure partie par la mutation.

Comme nous l'avons dit précédemment, chaque groupe de clones que nous avons obtenu est spécifique d'un groupe de variétés-nom. On observe tout de même la présence dans certaines variétés-nom, d'individus dont le génotype correspond à un clone spécifique d'une autre variété-nom. Nous considérerons ces individus comme des migrants, c'est-à-dire

Groupes de variétés-nom	Variétés-nom	Nombre d'individus par clone recensé															
		Total	Clones uniques	Clones principaux													
				A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
V1	Baniakpa	30	2	14				8	1	2	1						2
	Kagourou	58	2	39						16			1				
	Kinkérékou	104	1	39	2		59									3	
	Sobasson	76	4	39		9		1		2	21						
V2	Bonniwouré wouloukaba	50	2								35	12				1	
	Bonniwouré kétékoba	29		1							28						
V3	Moroko	52	3									43	6				
V4	Kpakara	29													29		
V5	Ahimon	30	3											5	22		
V6	Kpouna	27	2											2		23	

Groupes de clones		C1								C2		C3		C4	C5	C6
Clones principaux		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
		99						60		100		100		78		

Tableau III-5. Répartition des clones dans les variétés-nom analysées et relation entre ces clones.

Les valeurs de la colonne "Clones uniques" indiquent le nombre d'individus dont le génotype correspond à un clone unique. Les valeurs de la colonne "Clones principaux" indiquent le nombre d'individus dont le génotype correspond à un clone principal (nommé de A à O). L'arbre consensus a été réalisé à partir des génotypes des clones principaux avec 1000 bootstraps. Les valeurs de bootstrap sont indiquées en pourcentage.

des individus appartenant génétiquement à une variété-nom mais qui ont été introduits (volontairement ou non) dans une autre variété-nom, différente génétiquement. On trouve 5,4% d'individus correspondant à des migrants : 4,6% correspondent aux clones spécifiques d'un autre groupe de variétés et les 0,8% restants à des clones uniques n'appartenant à aucun groupe de clones. Ces derniers correspondent soit à des individus provenant d'un groupe de variétés non échantillonnées, soit à des individus issus d'ennoblissement.

En résumé, la majeure partie des variétés-nom analysées sont polyclonales mais une grande partie de la diversité observée s'interprète comme de la mutation. On trouve cependant des traces de migration de tubercules entre des variétés-nom issues de produits de reproduction sexuée différents.

3. Diversité génétique des variétés-paysan

a. Organisation de la diversité entre les variétés-paysan de même nom

Nous avons montré ci-dessus que chaque variété-nom est homogène génétiquement car composée très majoritairement de clones appartenant au même groupe de clones. Nous verrons ici comment se structure la diversité observée entre les variétés d'un même nom cultivées par des paysans différents, c'est-à-dire entre des variétés-paysan.

La répartition des clones dans les variétés-paysan est indiquée dans le Tableau III-6. Pour des raisons de lisibilité, nous n'avons pas indiqué la répartition des clones uniques, cependant ceux-ci ont été pris en compte dans les analyses suivantes.

On remarque que la quasi-totalité des variétés-paysan sont polyclonales. Chaque paysan cultive donc plusieurs clones dans les variétés-paysan mais on remarque que, comme dans l'analyse des variétés-nom, ces clones appartiennent en majorité au groupe de clones spécifique de la variété-nom. Toutes les variétés-paysan correspondant à une même variété-nom sont composées des mêmes clones. On observe donc une identité génétique des variétés-paysans portant le même nom.

On remarque tout de même que la fréquence de ces clones peut varier d'une variété-paysan à l'autre (Figure III-5). Par exemple, les variétés-paysan Kinkérékou-4 et Kinkérékou-5 présentent des fréquences de clones extrêmement différentes, même si ces clones sont très

Groupe de variétés-nom	Variétés	Paysans	Total	Nombre d'individus par clone recensé															
				Clones uniques	Clones principaux														
					A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M		
V1	Kagourou	1	22		18					4									
		3	36	2	21					12				1					
	Kinkérékou	2	27		7			17											3
		4	17		17														
		5	29		2			27											
		6	15		12	2		1											
		7	16	1	1			14											
	Sobasson	1	29	1	7								21						
		8	27	2	23							2							
9		20	1	9		9		1											
V2	Bonniwouré wouloukaba	1	26	2									13	10				1	
		2	24											22	2				
V3	Moroko	1	25	1												18	6		
		2	27	2												25			

Groupes de clones		Clones principaux												
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M

Tableau III-6. Répartition des clones dans les variétés-paysan analysées et relation entre ces clones.
 L'arbre consensus a été réalisé à partir des génotypes des clones principaux avec 1000 bootstraps. Les valeurs de bootstrap sont indiquées en pourcentage.

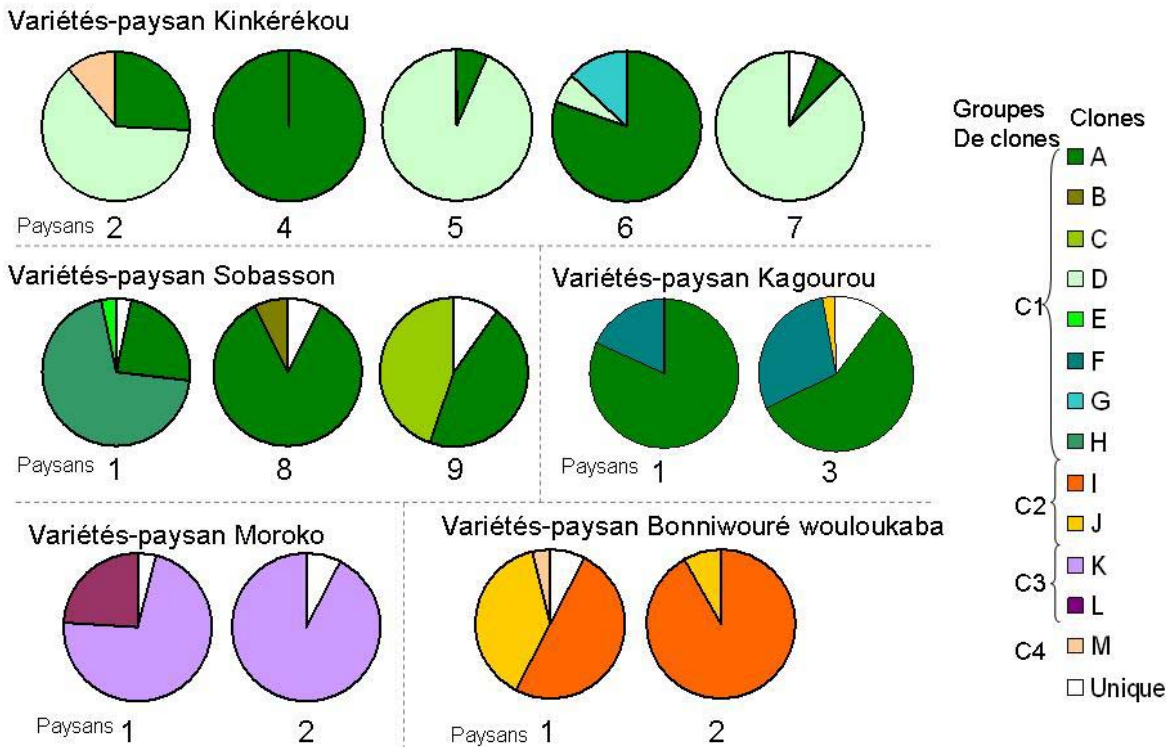


Figure III-5. Fréquence des clones dans les variétés-paysan, récoltées chez des paysans différents mais portant le même nom.

proches génétiquement. Dans certains cas pourtant, par exemple les variétés-paysan Kinkérékou-5 et Kinkérékou-7, les fréquences des clones sont très similaires.

Cette structuration se confirme par le calcul du CL_{st} entre les variétés-paysan portant le même nom (Tableau III-7). Dans la plupart des cas, les valeurs de CL_{st} sont fortes et hautement significatives. Précisons cependant que, même si les fréquences de clones sont parfois très différentes d'une variété-paysan à l'autre, les clones présents dans ces variétés-paysan appartiennent tous à un même groupe de clones et sont donc très proches génétiquement. En d'autres termes, même si les CL_{st} (structuration clonale) sont forts, les F_{st} (structuration allélique) sont faibles, bien que significatifs (Tableau III-7). On peut donc conclure que les variétés-paysan portant le même nom correspondent bien à un ensemble génétique homogène, mais que les clones ne sont pas organisés de la même façon selon les variétés-paysan.

Au sein des variétés-paysan du groupe de variétés-nom V1, on remarque une distribution très différente des clones A et D (Tableau III-6), qui se traduit par des valeurs de CL_{st} très fortes (Tableau III-7). On remarque en effet que lorsque ce clone D est présent dans une variété-paysan, le clone A est en faible fréquence. Inversement, lorsque le clone A est présent en forte fréquence dans une variété-paysan, le clone D est absent. Cette distribution laisse penser que le clone A est apparu tôt dans l'histoire du groupe de variété-nom V1 et a été diffusé chez une grande majorité des paysans. Au contraire, on peut penser que le clone D est apparu plus tard et a été diffusé chez peu de paysans.

En résumé, chaque paysan gère des variétés-paysan polyclonales mais dont la diversité s'interprète en majeure partie comme de la mutation. Le nom de variété donné par les paysans a globalement la même signification génétique chez tous les paysans avec lesquels nous avons travaillé. On observe tout de même des différences dans l'organisation de la diversité clonale entre les variétés-paysan portant le même nom.

b. Relation entre les flux de tubercules et la diversité des variétés-paysan

Parmi les 19 variétés-paysan analysées, 8 ont fait l'objet de mélanges de tubercules obtenus de 2 à 5 paysans différents (Tableau III-1). On constate qu'il n'y a pas de relation

Kinkérékou	2	4	5	6	7
2		0,02 *	0,01 **	0,02 *	0,01 *
4	0,58 **		0,04 **	0 NS	0,03 **
5	0,15 *	0,91 **		0,03 **	0 NS
6	0,38 **	0,11 NS	0,75 **		0,03 **
7	0,08 NS	0,87 **	-0,03 NS	0,66 **	

Kagourou	1	3
1		0,01 *
3	0,04 NS	

Sobasson	1	8	9
1		0,04 **	0,06 **
8	0,55 **		0,01 **
9	0,4 **	0,28 **	

Bonniwouré wouloukaba	1	2
1		0,01 **
2	0,23 **	

Moroko	1	2
1		0,01 **
2	0,13 **	

Tableau III-7. Valeurs de CL_{st} (différenciation clonale) et F_{st} (différenciation allélique) calculés entre les variétés-paysan portant le même nom.

Les valeurs de CL_{st} sont indiquées au dessous des diagonales et les valeurs de F_{st} au dessus des diagonales. Les numéros correspondent aux codes donnés aux paysans. NS = Non significatif, * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$.

entre le nombre de paysans donneurs de tubercules et le nombre de clones (principaux et uniques) observés dans les variétés-paysans (Figure III-6).

Ce résultat ne valide donc pas notre hypothèse, selon laquelle plus les variétés-paysan avaient fait l'objet de mélanges de tubercules, plus la diversité intra-variété-paysan était grande. Cette absence de relation peut s'expliquer par différentes raisons :

1. La diversité intra-variétés-paysan est faible, on manque donc peut-être de puissance pour mettre en évidence une relation.
2. Nous avons vu dans la partie précédente que les variétés-paysan correspondant à une même variété-nom sont composées des mêmes clones, bien que les fréquences de ces clones varient d'une variété-paysan à l'autre. Ces clones sont spécifiques à la variété-nom et sont très peu différents génétiquement. Des flux de tubercules entre les variétés-paysan correspondant à une même variété-nom n'introduisent donc pas de diversité clonale car ils se font entre des entités similaires génétiquement.
3. L'existence de mélanges de tubercules dans les variétés-paysan n'a pu être établie que sur une seule génération. En effet, dans la majorité des cas, les paysans avaient obtenu leurs variétés par héritage au décès de leur père. L'estimation du nombre de donneurs à l'origine de la variété-paysan s'en trouve donc biaisée.

Il est donc difficile de tirer des conclusions sur le rôle des flux de tubercules dans la diversité intra-variété-paysan à partir de cette analyse.

C. Structure et diversité génétique des champs d'igname

1. Diversité clonale et relation entre ces clones

Nous avons tout d'abord conduit une analyse de la diversité clonale similaire à celle conduite pour l'analyse des variétés.

L'analyse de la diversité présente dans les champs d'igname (deuxième échantillonnage, 284 individus) a révélé 35 clones différents. On observe 21 clones principaux, dont 12 correspondant à des clones principaux mis en évidence dans l'analyse précédente. Les 14 clones restant correspondent à des clones uniques.

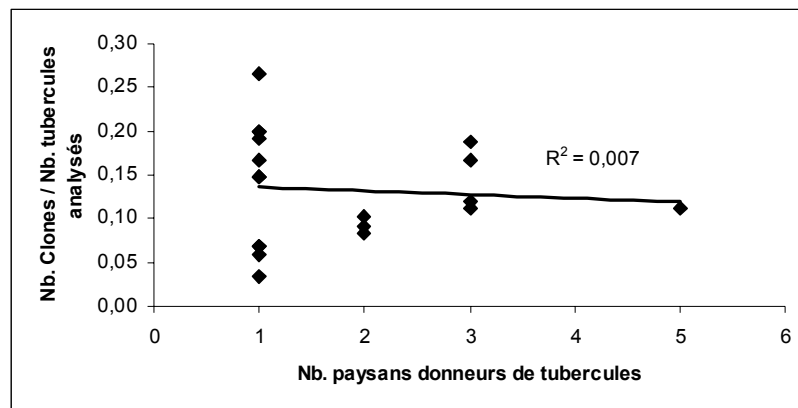


Figure III-6. Nombre de clones observés par variété-paysan.

Le nombre de clones par variété-paysan est rapporté au nombre de tubercules analysés dans chaque variété-paysan. Ce nombre de clones est présenté en fonction du nombre de paysans qui ont donné des tubercules de cette variété au paysan chez qui nous l'avons collectée.

Les relations entre ces clones sont indiquées dans la Figure III-7. On observe 10 ensembles de clones génétiquement proches. L'analyse du MSN (Figure III-8) montre que les clones de ces 10 ensembles se différencient du clone majoritaire par peu d'allèles. Un calcul similaire à celui réalisé dans l'analyse précédente nous confirme qu'il est plus probable que ces clones soient apparus par mutation que par reproduction sexuée. Ces 10 ensembles s'interprètent donc comme des groupes de clones, c'est-à-dire à des clones dérivant par mutation. Parmi les 10 groupes obtenus, on retrouve les 6 groupes (C1 à C6) mis en évidence dans l'analyse précédente. Ces groupes diffèrent un peu entre les deux analyses puisqu'on note la présence dans cet échantillonnage de clones que nous n'avions pas observés dans l'analyse précédente.

On note aussi la présence de 4 clones uniques qui ne se rapportent à aucun des 10 groupes de clones. Un calcul similaire à celui de l'analyse précédente indique qu'il est plus probable que ces 10 groupes de clones et ces 4 clones uniques soient apparus par reproduction sexuée que par mutation. Cet échantillonnage suggère donc l'existence de 14 produits de reproduction sexuée contre 21 produits de mutation.

Dans cette analyse, nous ignorions au moment de l'échantillonnage la variété d'appartenance des individus génotypés par la suite. Par contre, nous savions quelles variétés étaient cultivées par les paysans et, grâce à l'analyse précédente, nous savons à quels clones correspondent certaines des variétés cultivées par ces paysans. Chaque fois qu'un clone de l'un des groupes de clones a été trouvé dans un champ, on note que le paysan cultive effectivement la ou les variétés caractérisées par ce groupe de clones. L'inverse n'est pas vrai puisque parfois les paysans cultivent des variétés dont nous n'avons pas retrouvé les clones spécifiques. Ceci est particulièrement vrai pour des paysans cultivant de très grands champs et pour des variétés cultivées en faible quantité. Il s'agit donc sans doute d'un effet d'échantillonnage.

On est donc en mesure de déterminer à quel groupe de variétés appartiennent une partie des individus que nous avons génotypés, même si nous n'avions pas cette information au moment de l'échantillonnage.

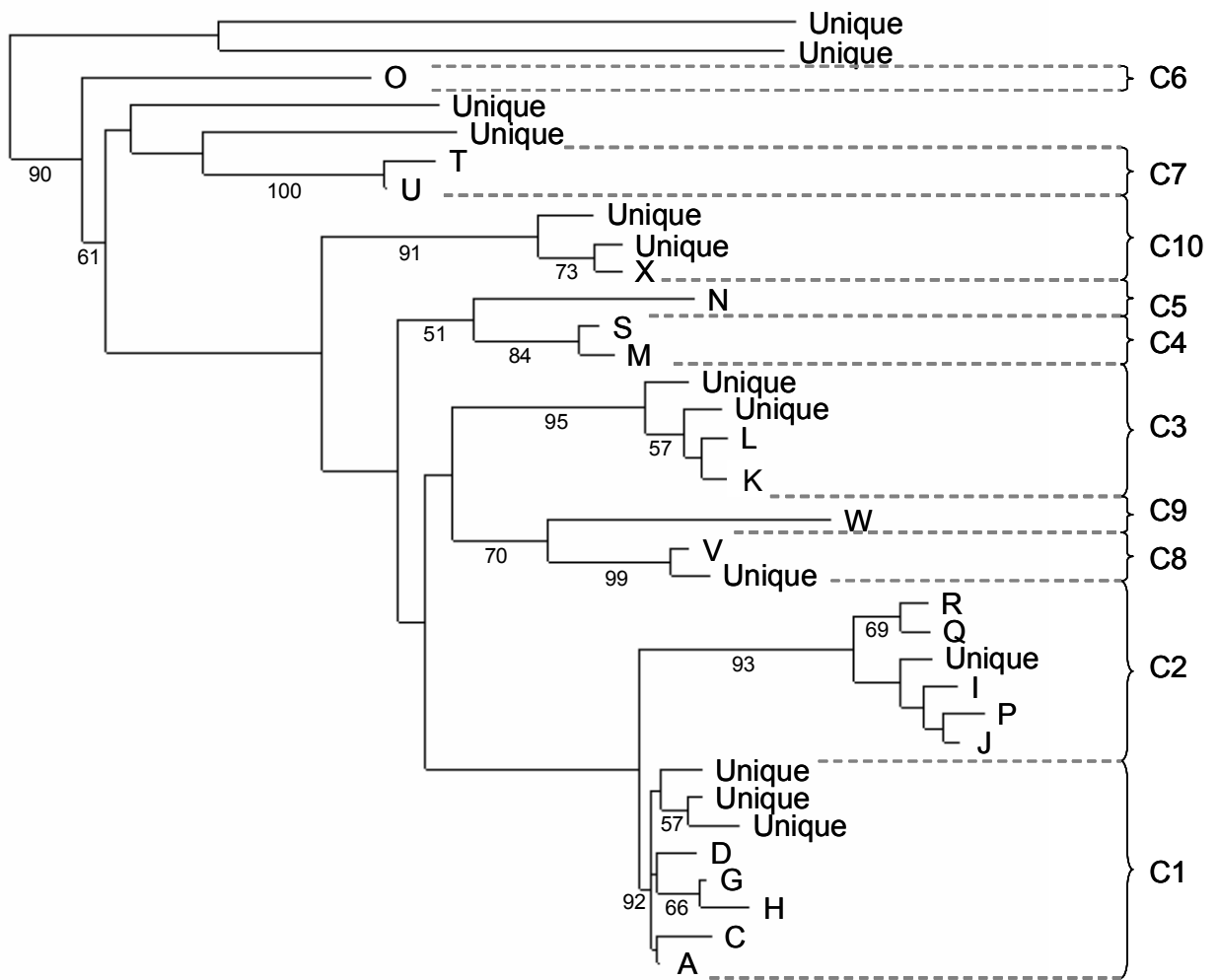


Figure III-7. Arbre consensus des clones obtenus dans l'échantillonnage des champs. Cet arbre a été construit avec 1000 bootstraps à partir d'une matrice de distance génétique D_{sa} (méthode du Neighbor-joining). Les valeurs de bootstraps sont indiquées en pourcentage. Les clones sont repérés par une lettre (A à X) pour les clones principaux et par la notation "unique" pour les clones uniques. Les différents ensembles de clones proches génétiquement sont nommés C1 à C10.

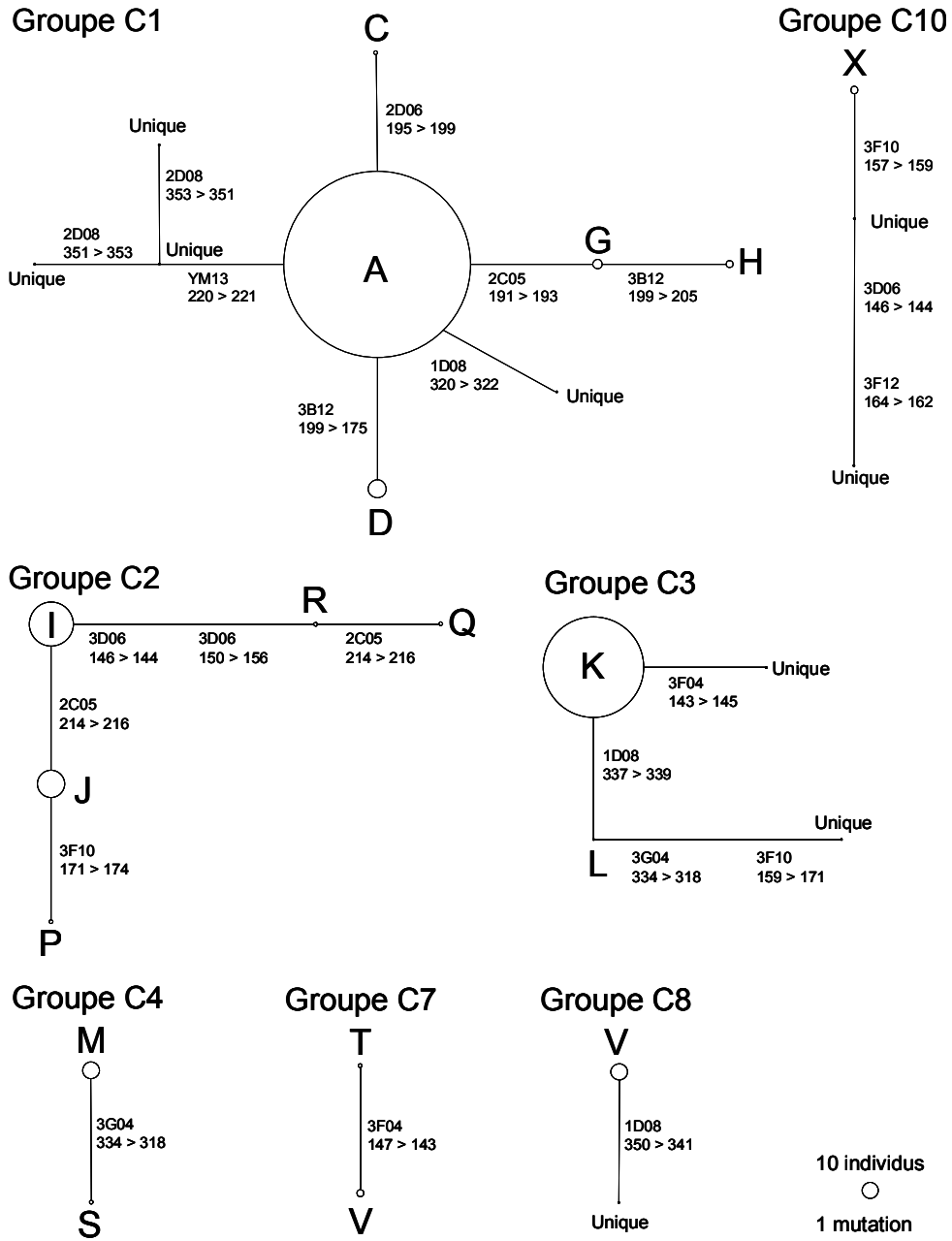


Figure III-8. Minimum Spanning Network (MSN) représentant les relations entre les clones spécifiques des groupes de clones obtenus dans l'analyse de la diversité des champs. Les clones principaux sont représentés par une lettre (A à X) et les clones uniques sont indiqués par le terme "unique". Chaque différence est représentée par le nom du locus et les allèles qui diffèrent.

2. Différenciation génétique des champs d'igname

Dans un premier temps, notre objectif a été de savoir si des paysans différents cultivent la même diversité génétique. Pour cela, nous avons comparé la diversité observée dans les champs de 6 paysans. La répartition des clones dans les champs analysés est indiquée dans le Tableau III-8. Pour des raisons de lisibilité, la répartition des clones uniques n'est pas indiquée dans ce tableau mais ces clones ont été pris en compte pour les analyses suivantes.

Nous avons analysé la différence de répartition des clones dans les six champs en calculant les CL_{st} (Tableau III-9). Les CL_{st} indiquent que les fréquences des clones sont différentes d'un champ à l'autre (CL_{st} significatifs). Cependant, ces valeurs sont faibles ($CL_{st} = 0$ à $0,07$). Les F_{st} calculés entre les champs sont très faibles et la plupart du temps non significatifs, ce qui signifie que les fréquences alléliques sont similaires d'un champ à l'autre.

De la même façon, nous avons calculé les CL_{st} sur les groupes de clones. C'est-à-dire que nous avons considéré tous les clones appartenant à un même groupe de clones comme identiques au clone majoritaire. De cette façon, on ne prend plus en compte les individus proches génétiquement, supposés être des mutants. On observe alors que la plupart des CL_{st} sont faibles et non significativement différents de zéro (Tableau III-10). En d'autres termes, les paysans cultivent globalement les mêmes groupes de clones en fréquences similaires. On observe cependant un paysan dont le champ se différencie de tous les autres (paysan 2). On remarque en effet la présence de deux groupes de clones (C6 et C7) non présents dans les autres champs et l'absence d'un groupe de clones (C2) présent dans tous les autres champs (Tableau III-8).

Dans l'analyse précédente sur la diversité des variétés, nous avons montré que chaque groupe de clones était spécifique d'un groupe de variétés. L'analyse conjointe des CL_{st} sur les clones et les groupes de clones et des F_{st} suggère donc que les paysans cultivent globalement les mêmes groupes de variétés en fréquences similaires. Ceci est particulièrement vrai pour les variétés caractérisées par les groupes de clones C1, C2 et C3. Ces variétés sont, d'après notre enquête, cultivées par tous les paysans avec lesquels nous avons travaillé et en grande quantité. On observe des différences plus importantes pour les autres groupes de clones. On remarque que les variétés caractérisées par les groupes C4, C5 et C6 apparaissent dans notre enquête comme cultivées par peu de paysans et en faible quantité. Il n'est donc pas surprenant

que les clones spécifiques à ces variétés contribuent plus que les autres à structurer la diversité.

La faible différenciation clonale observée au niveau des champs contraste avec la forte différenciation clonale observée au niveau des variétés ($CL_{st} = 0,04$ à $0,91$ Tableau III-7). Le Tableau III-7 indique de fortes différenciations clonales entre les variétés caractérisées par les clones des groupes C1, C2 et C3. Pourtant au niveau des champs, les clones de ces groupes ne présentent pas les plus forts niveaux de différenciation (Tableau III-11). De plus, les trois clones présentant de forts CL_{st} (D, H et J) sont représentés par peu d'individus et donc ont des conséquences faibles sur la différenciation globale. Au contraire, les clones représentés par un grand nombre d'individus (A, K et I), qui ont donc des conséquences importantes sur la différenciation globale, présentent des valeurs de CL_{st} faibles. On peut donc supposer que la forte structuration observée au niveau variétal influence peu la structuration globale au niveau des champs.

En résumé, il ressort de cette analyse que l'ensemble des paysans avec lesquels nous avons travaillé cultivent globalement les même groupes de clones et en fréquences similaires. Cependant, la présence de certains groupes de clones cultivés en faible quantité et par peu de paysans contribue à structurer faiblement la diversité observée.

3. Mise en évidence de la diffusion de produits de l'ennoblissement

L'analyse des arbres consensus des clones obtenus dans les deux échantillonnages (Figure III-2 et III-7) nous montre cinq individus correspondant à des clones uniques et particuliers. Ces clones se différencient des clones principaux par 22 allèles en moyenne (85% des allèles). Nous avons assigné, à l'aide du logiciel STRUCTURE, ces cinq individus aux populations sauvages (*D. abyssinica*) et cultivées (*D. rotundata*) échantillonnées dans le nord du Bénin et analysées dans le Chapitre II. Cette analyse révèle que ces cinq individus ont un génotype sauvage *D. abyssinica*.

Trois de ces individus ont été collectés dans les variétés Kagourou, Kinkérékou et Kpouna. Ces trois variétés ne sont pas supposées avoir fait l'objet d'ennoblissement, cependant, elles ont été collectées dans les champs des deux paysans pratiquant l'ennoblissement (paysans 2 et 3). Cela suggère que la présence de ces deux génotypes

Clones Principaux	Groupe de clones	Nombre d'individus	CL _{st}
N	C5	8	0,10
J	C2	15	0,09
D	C1	10	0,08
H	C1	4	0,06
U	C7	4	0,06
W	C9	9	0,03
R	C2	2	0,03
K	C3	55	0,03
A	C1	102	0,02
I	C2	24	0,02
P	C2	2	0,02
C	C1	2	0,02
T	C7	2	0,02
M	C4	9	0,02
B	C1	5	0,01
L	C3	1	0
O	C6	1	0
Q	C2	2	0
X	C10	2	0
V	C8	10	0
S	C4	2	0
Clones uniques		1 (moyenne)	0 (moyenne)

Tableau III-11. Valeurs de CL_{st} obtenues pour chaque clone lors de l'analyse de la différenciation clonale entre les champs des paysans.

Chaque clone (A à X) est spécifique d'un groupe (C1 à C10). Pour chaque clone, on indique le nombre d'individus correspondant à ce clone et la valeur de CL_{st} obtenue lors du calcul du CL_{st} entre les champs des six paysans.

sauvages dans ces variétés traduit l'introduction de génotypes sauvages par le biais de l'ennoblissement.

Les deux autres individus ont été collectés dans les champs de deux paysans ne pratiquant pas l'ennoblissement (paysans 5 et 7). On met donc ici en évidence des produits d'ennoblissement qui ont migré depuis les champs des paysans les ayant ennoblis vers les champs de ces paysans.

Nous avons montré dans le Chapitre II qu'une grande partie des individus pré-ennoblis sont de génotypes cultivés et qu'il s'agit probablement d'hybrides inter-variétaux. Nous ne sommes pas en mesure de montrer la présence de ces hybrides dans cette analyse car nous sommes incapables de distinguer génétiquement ces hybrides des autres individus cultivés. Dans nos deux échantillonnages, on note la présence de trois individus qui n'appartiennent à aucun groupe de clones et qui ne sont pas de génotypes sauvages. Ces individus peuvent être le reflet de l'introduction d'hybrides inter-variétaux. Cependant, notre échantillonnage s'est limité à peu de variétés, il est donc aussi possible que ces individus correspondent à des clones spécifiques de variétés sur lesquelles nous n'avons pas travaillé.

En résumé, nos résultats montrent la diffusion de produits d'ennoblissement chez des paysans ne pratiquant pas l'ennoblissement, élargissant ainsi l'impact de la pratique à un plus grand nombre de paysans.

4. La répartition des clones dans les champs dépend-elle des choix paysans ?

Avant de commencer cette étude, nous supposons que les paysans, à travers leur choix de cultiver un certain nombre de variétés et en quantité déterminée, avaient une influence directe sur le nombre et la répartition des clones dans leurs champs. Or, nous venons de mettre en évidence que les variétés sont polyclonales et que la diversité observée est probablement due à la mutation. Si les paysans ne sont pas en mesure de différencier ces mutants, alors la diversité intra-variétale ne doit pas dépendre du paysan. Dans ce cas, il n'est plus aussi évident que le nombre et la fréquence des clones dans un champ dépendent du choix paysan.

Pour tester le rôle du choix paysan sur le nombre et la fréquence des clones dans les champs, nous avons utilisé un test analogue au test d'Ewens-Watterson. Dans notre cas, ce test consiste à comparer la distribution observée des clones à la distribution attendue des clones sachant le nombre d'individus analysés et le nombre de clones observés.

Les résultats du test sont indiqués dans le Tableau III-12. On constate qu'excepté pour le champ du paysan 2, la distribution des clones dans les champs ne s'écarte pas d'un modèle aléatoire. Contrairement à ce que l'on pensait, la répartition des clones dans un champ ne serait donc pas le reflet des choix paysans.

Pour expliquer ce résultat, on suppose que même si les paysans choisissent en quelle quantité ils cultivent leurs variétés, la distribution des clones à l'intérieur des variétés serait indépendante des paysans car ils ne seraient pas en mesure de les différencier morphologiquement. La nature polyclonale des variétés d'igname masquerait donc l'effet de la gestion paysanne des variétés.

On observe tout de même un cas où le test met en évidence une déviation par rapport au modèle aléatoire. Il s'agit du champ du paysan 2. Ce champ se révèle particulièrement intéressant car il appartient au seul paysan pratiquant l'ennoblissement avec lequel nous avons travaillé pour cette étude particulière.

La distribution des clones attendus selon le modèle aléatoire révèle que ce paysan possède plus de clones en faible fréquence que ce qui est attendu. Il existe une relation entre le nombre de variétés possédées et le nombre de clones observés dans les champs : plus un paysan a de variétés, plus on met en évidence de clones différents (Figure III-9). Comme ce paysan possède plus de variétés que tous les autres paysans (19 variétés contre 14 en moyenne pour les autres paysans), il n'est pas étonnant que l'on trouve le plus grand nombre de clones différents dans son champ (0,34 clones par tubercule analysé contre 0,21 en moyenne pour les autres paysans). Cependant, la faible fréquence d'un grand nombre de clones issus de reproduction sexuée pourrait s'expliquer car ce paysan pratique l'ennoblissement. Il a déjà introduit des produits d'ennoblissement dans ses variétés et il a déjà créé une variété nouvelle (Dompikou) à partir d'un produit d'ennoblissement. Nous avons d'ailleurs trouvé trois génotypes sauvages dans son champ qui pourraient correspondre à ces introductions. Ces produits d'ennoblissement, supposés génétiquement différents des clones spécifiques de ses variétés, pourraient n'être cultivés qu'en faible quantité car, dans le cas des tubercules ennoblis intégrés dans une variété, ces tubercules n'ont pas forcément eu le temps (ou la possibilité) d'envahir les variétés. Dans le cas de la variété Dompikou, elle est encore cultivée

Paysan	Nb individus	Nb clones	p
1	50	12	0,59
2	50	17	0,98
4	40	7	0,28
5	50	10	0,89
7	45	12	0,39
8	49	9	0,35

Tableau III-12. Résultats du test d’Ewens-Watterson pour chaque champ analysé. Les deux paramètres utilisés pour générer la distribution attendue des clones, c’est-à-dire le nombre d’individus analysés et le nombre de clones observés, sont indiqués, ainsi que la probabilité p obtenue. La distribution des clones suit un modèle aléatoire si $0,025 < p < 0,975$. Les valeurs significatives, indiquant un écart au modèle aléatoire, sont indiquées en gras.

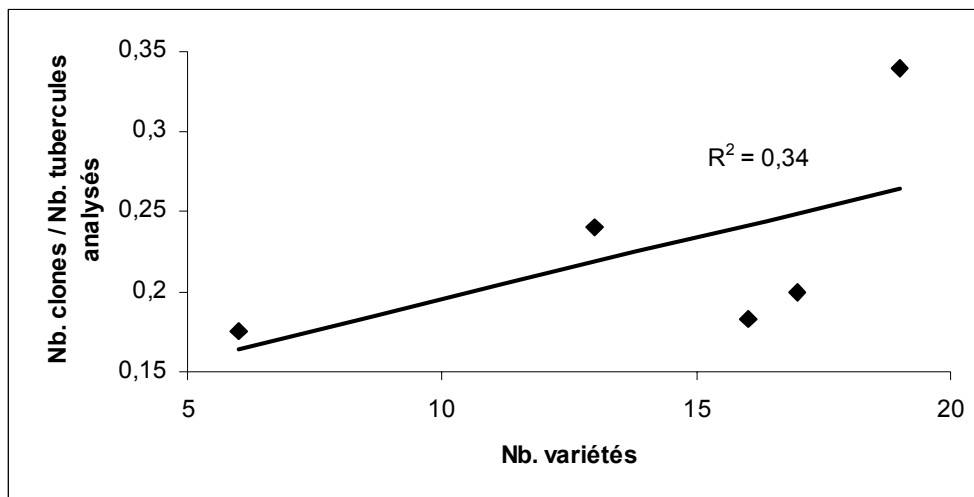


Figure III-9. Relation entre le nombre de clones observés dans un champ et le nombre de variétés cultivées dans un champ. Le nombre de clones observés est rapporté au nombre de tubercules analysés par champ.

en faible quantité. Dans tous les cas l'existence d'un plus grand nombre de clones en faible fréquence que ce qui est attendu sous un modèle aléatoire pourrait être la trace de l'introduction de diversité *via* l'ennoblissement.

Lorsqu'on réalise ce test sur les groupes de clones et non pas sur les clones (c'est-à-dire en considérant tous les clones d'un groupe de clones comme identiques au clone majoritaire), les distributions des groupes de clones dans chaque champ ne s'écarte pas significativement du modèle aléatoire. Si, d'après les résultats obtenus sur la diversité des variétés, on admet que chaque groupe de clones correspond à un groupe de variétés, cela signifie que les choix du paysan ne se reflètent pas dans la répartition des groupes de variétés dans son champ. Ce résultat est contre-intuitif.

Une explication réside dans le fait que cette analyse a été réalisée sur les groupes de variétés, pas sur les variétés. Or, le paysan gère sa diversité au niveau de la variété, pas du groupe de variétés. De plus, on remarque que les groupes de variétés V1 et V2 contiennent à la fois des variétés cultivées en grande quantité et des variétés cultivées en plus faible quantité (Baco 2000). Le fait que les paysans cultivent des variétés synonymes génétiquement en quantité différente peut donc masquer l'impact du choix paysan sur la distribution des clones.

L'absence d'impact du choix paysan sur la diversité est un résultat à prendre avec précaution. Tout d'abord, le test d'Ewens-Watterson "classique" est peu puissant et a tendance à ne pas rejeter l'hypothèse nulle même lorsqu'il y a sélection (Ewens 2004). Par analogie notre test pourrait être trop conservatif. De plus, il n'est pas certain que nos données respectent bien toutes les hypothèses de départ (ex. équilibre mutation/dérive). Il est donc possible que les résultats obtenus ici soient davantage dûs aux défauts du test plutôt qu'à une absence d'impact du choix paysan.

Bien que des analyses complémentaires restent à réaliser, notamment pour mieux comprendre comment notre cas s'éloigne du modèle théorique et comment cela peut influencer sur le test, cette approche permet d'aborder d'un point de vue quantitatif une des données fondamentales de la conservation *in situ* : jusqu'à quel point la gestion paysanne influence-t-elle la diversité génétique et quelle est la part de diversité qui échappe au contrôle du paysan ?

En résumé, nous ne pouvons pas conclure que les choix de 5 des 6 paysans (nombre de variétés et quantité de chaque variété) influencent la répartition des clones dans leurs champs. Cependant, l'impact de ces choix est visible sur la diversité maintenue par un des paysans, celui pratiquant l'ennoblissement. En effet, la présence de nombreux clones en faible fréquence traduit l'introduction de diversité par le biais de l'ennoblissement. Cette différence de comportement peut avoir des incidences importantes en termes de gestion de la diversité.

IV. Discussion

A. Structuration génétique et gestion paysanne

1. Classification paysanne vs classification génétique

Avant d'entamer cette étude, nous pensions que les variétés étaient hétérogènes génétiquement. En effet, en raison des difficultés qu'ont les paysans à identifier leurs variétés en dehors de leurs champs (Baco 2000) et des flux de tubercules entre les paysans, nous supposions l'existence d'importantes migrations de tubercules entre des variétés différentes génétiquement.

Au contraire, nous avons observé une très grande homogénéité génétique des variétés-paysan. La diversité intra-variété-paysan observée est en effet probablement due aux mutations et ne peut pas être imputée à des migrations. Nous avons aussi montré que des paysans différents cultivent sous un même nom les mêmes clones. Dans ce cas, les flux de tubercules entre les paysans mettent en jeu des clones appartenant aux mêmes groupes et ne contribuent donc pas à introduire dans une variété-paysan des clones différents. Selon Baco (2000), les paysans tentent d'éviter les mélanges de tubercules de variétés différentes en semant en lignes distinctes les variétés dans leur champ et en conservant les tubercules en tas distincts. En cas de mélange, les tubercules douteux ne sont pas utilisés pour planter le champ. Ce mode de gestion semble particulièrement efficace car on note peu d'individus identifiés comme des migrants (5,4% des individus analysés).

Les variétés-paysan telles qu'elles sont définies et gérées par les paysans ont donc une signification génétique réelle. Cette conclusion est valable chez chacun des paysans pris indépendamment mais aussi pour l'ensemble des paysans avec lesquels nous avons travaillé. On constate en effet que les variétés-paysan portant le même nom correspondent aux mêmes groupes de clones. La variété-nom a donc une identité génétique.

Tous ces paysans appartiennent à la même ethnie, les Gando. On en déduit donc que les paysans de l'ethnie Gando ont les mêmes critères de classification des variétés. Ceci est

valable pour l'ethnie Gando du village Gorobani, mais en l'absence de données génétiques dans d'autres ethnies et d'autres villages, nous ne pouvons pas généraliser cette conclusion.

Une analyse de structuration génétique réalisée au niveau du Bénin par Tostain et al. (en préparation) indique que quelques variétés-paysan portant le même nom collectées dans des régions très différentes sont différentes génétiquement. Cependant, une telle analyse doit être réalisée sur un échantillon plus important pour pouvoir tirer des conclusions sur les ressemblances ou différences de classifications chez des ethnies différentes.

Toutes les variétés d'igname ne sont pas différentes génétiquement. Parmi les 10 variétés analysées, les quatre variétés du groupe V1 sont caractérisées par le même groupe de clones (C1) et les deux variétés du groupe V2 sont caractérisées par le même groupe de clones (C2). On est donc dans une situation où les paysans donnent des noms différents à des individus identiques génétiquement (sur nos 13 locus). On voit donc apparaître des groupes génétiques de variétés.

Cette structuration en groupes génétiques de variétés rappelle les groupes variétaux tels qu'ils ont été définis par Hamon et al. (1986) ou Dansi et al. (1999). Ces groupes variétaux renferment plusieurs variétés proches morphologiquement mais bien différenciées de celles regroupées dans un autre groupe variétal. Cependant, les groupes variétaux définis au Bénin par Dansi et al. (1999) sur des critères morphologiques ne correspondent pas aux groupes génétiques de variétés que nous avons mis en évidence ici sur des critères génétiques. Par exemple, les quatre variétés du groupe V1, qui apparaissent ici similaires génétiquement, n'ont pas été classées dans un même groupe morphologique par Dansi et al. (1999). Nos résultats sont cependant en accord avec la classification paysanne donnée par Baco (2003). A partir d'entretiens de groupe, Baco (2003) a noté les critères agronomiques, morphologiques, sociologiques et culturels des différentes variétés cultivées dans la région nord du Bénin, et plus particulièrement dans le village de Gorobani où nous avons mené notre étude génétique. D'après ces critères, les quatre variétés du groupe V1 sont identiques. Il n'est pas forcément surprenant que la classification paysanne de Baco (2003) et la classification morphologique de Dansi et al. (1999) soient différentes. En effet, ces études n'ont pas été menées dans les mêmes régions du Bénin. En admettant que les paysans de différentes régions ou ethnies n'aient pas les mêmes critères de classification et donc nomment de la même façon des individus différents génétiquement, il est tout à fait possible d'obtenir des différences entre

des classifications faites au niveau villageois (Baco 2003) et au niveau national (Dansil et al. 1999).

Il est étonnant de constater que les quatre variétés du groupe V1 ne soient pas différentes selon les critères paysans mais que malgré tout les paysans les nomment différemment. Il est aussi étonnant que des noms différents aient été maintenus au cours du temps s'ils se réfèrent réellement à la même chose. Deux hypothèses peuvent expliquer cette synonymie persistante.

(i) Il est possible qu'il existe des critères personnels de classification, différents d'un paysan à l'autre. Dans ce cas, les critères mis en évidence par les entretiens de groupes (Baco 2003) n'intégreraient pas les critères personnels qui pourraient différencier ces variétés. Cette hypothèse suppose que ces variétés présentent des différences phénotypiques suffisamment peu importantes pour ne pas être rapportées dans les critères de groupe. De plus, il faut supposer que ces différences soient apparues par mutation d'un morphotype d'origine, de sorte que les morphotypes soient suffisamment proches génétiquement pour que nous ne puissions pas les différencier génétiquement. Cette hypothèse paraît plausible car nous avons rencontré, au cours de notre enquête, des paysans dont les critères de classification étaient effectivement différents. Nous avons ainsi travaillé avec un paysan qui cultive la variété Baniakpa (groupe de variétés V1) et en a donné des tubercules à un second paysan. Le second paysan a estimé que ces tubercules correspondaient à la variété Kagourou (groupe de variétés V1) et a donc renommé ces tubercules. D'un point de vue génétique, les génotypes des tubercules cultivés par ces deux paysans appartiennent tous au groupe de clones C1.

(ii) Il est possible qu'il n'y ait pas de différences morphologiques entre ces variétés mais qu'une seule variété ait été introduite plusieurs fois indépendamment et sous des noms différents. Ce genre d'introduction multiple a déjà été rapporté (Baco 2000, Tostain et al. en préparation). Le maintien des noms pourrait s'expliquer par le mode de gestion des variétés : les paysans sèment et conservent séparément les variétés, ils sont donc en mesure de maintenir séparément des individus identiques morphologiquement simplement parce que ces individus sont nommés différemment et donc gérés indépendamment.

2. Comment s'organise la diversité génétique entre les paysans ?

L'analyse de la diversité génétique des champs d'igname indique que les paysans cultivent globalement les mêmes groupes de clones et en fréquences similaires. De plus, nos résultats nous permettent d'en déduire que les paysans cultivent les mêmes groupes de

variétés et en fréquences similaires. Ces résultats s'accordent bien avec les études de Baco (2004) qui indiquent que dans une même ethnie, les paysans préfèrent les mêmes types d'ignames et les mêmes variétés, alors que ces préférences peuvent varier d'une ethnie à l'autre.

Ce résultat peut être relié au fait que nous n'avons pas pu montrer que la distribution des clones dans un champ est dépendante du paysan. Ce constat est valable pour la plupart des paysans avec lesquels nous avons travaillé (la seule exception est le cas du paysan pratiquant l'ennoblissement). Si dans une même ethnie les paysans cultivent globalement les mêmes variétés, en même fréquence, et s'ils n'ont pas d'impact sur la diversité intra-variété-paysan créée par mutation, alors il n'est pas étonnant que nous ayons obtenu pour l'ensemble des paysans la même image concernant leurs rôles sur l'organisation de la diversité intra-champ.

L'image obtenue de la structuration génétique des variétés semble contradictoire avec celle obtenue sur la structuration génétique des champs. Nous avons en effet montré que même si les paysans cultivent les mêmes clones sous un même nom, ils les cultivent en fréquences différentes. Au contraire, au niveau des champs, les paysans cultivent les mêmes clones en fréquences similaires. Ce constat est particulièrement valable pour les quatre variétés du groupe V1, très fortement structurées au niveau variétal mais participant très peu à la structuration dans les champs.

Pour expliquer ce paradoxe pour les variétés du groupe V1, on envisage trois hypothèses, résumées dans la Figure III-10. Avant d'explicitier ces hypothèses, il faut rappeler que ces quatre variétés sont caractérisées par les mêmes clones (groupe de clones C1), dérivant probablement les uns des autres par mutation. Il faut aussi préciser que les différents paysans interrogés lors de nos enquêtes cultivent tous au minimum deux de ces variétés du groupe V1. Ces trois hypothèses sont toutes basées sur le même principe : il est nécessaire que plusieurs variétés du groupe V1 soient cultivées dans un même champ et qu'il existe un processus d'homogénéisation.

(Hypothèse 1) Effet d'échantillonnage.

On considère deux champs avec trois variétés du groupe V1 dans ces champs. Admettons que deux variétés soient cultivées en grande quantité et que la troisième soit cultivée en faible quantité. Les variétés cultivées en grande quantité sont fréquemment échangées entre les paysans, on peut donc supposer que les fréquences de clones sont similaires d'un paysan à l'autre. La variété cultivée en très faible quantité n'est pas échangée entre les paysans. Elle est

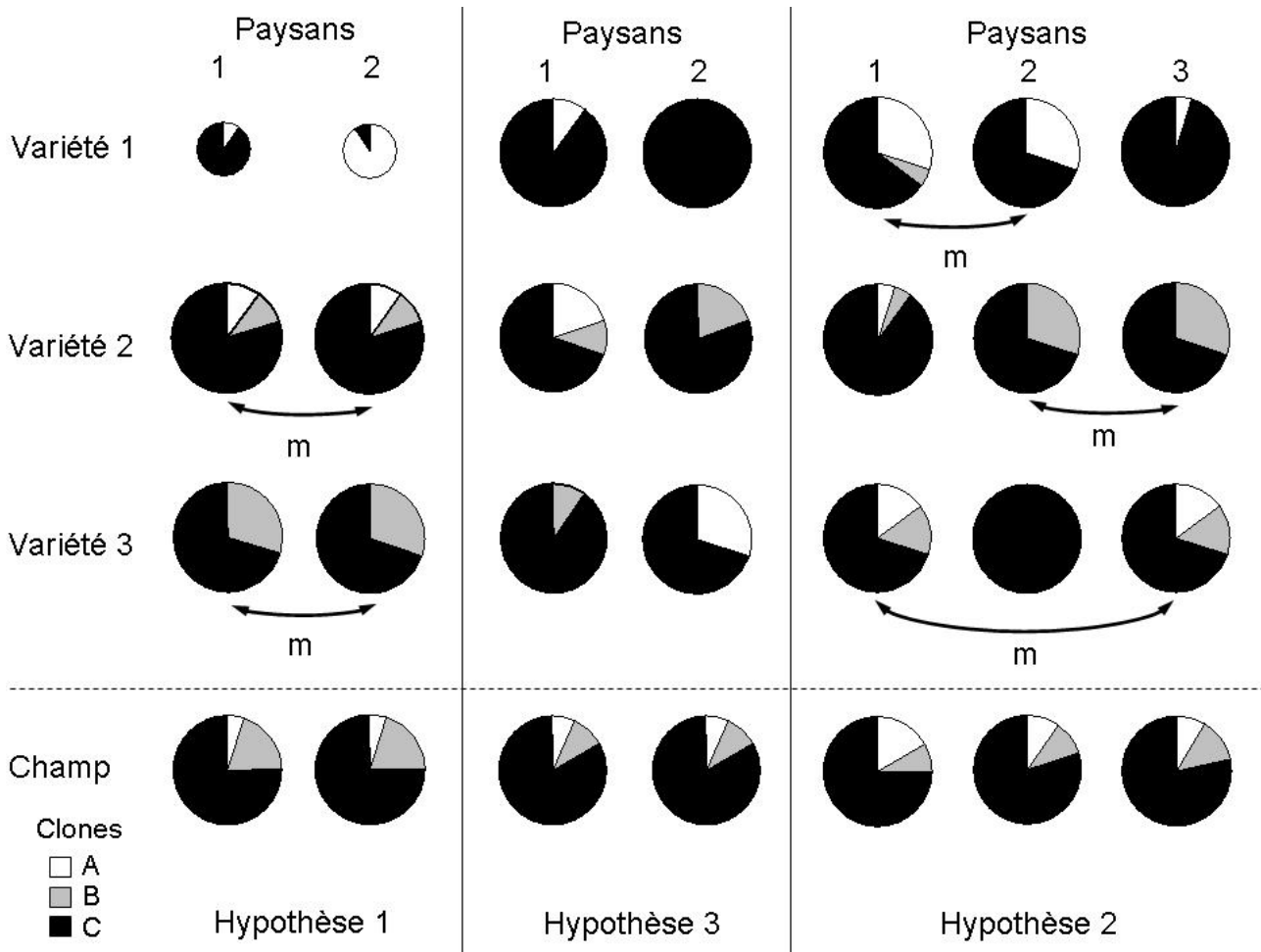


Figure III-10. Résumé des trois hypothèses pouvant expliquer d’observer à la fois une structuration des variétés forte et une structuration des champs faible. Ces hypothèses sont détaillées dans le texte. La taille des cercles indique la quantité de tubercules cultivés pour chaque variété.

soumise à un processus fort de dérive qui peut conduire à des fréquences de clones très différentes d'un paysan à un autre. Un échantillonnage au niveau variétal mettra en évidence cette différence. Cependant, comme cette variété est présente en faible quantité, son impact au niveau de la diversité du champ sera très faible. Un échantillonnage au niveau du champ ne révélera donc que la structuration des deux variétés principales, c'est-à-dire une très faible structuration.

(Hypothèse 2) Maintien de clones morphologiquement différents

On considère deux champs et trois variétés du groupe V1. Admettons cette fois que parmi les trois clones présents, le clone A soit légèrement différent morphologiquement des clones B et C, eux-mêmes identiques. Le paysan est alors en mesure de différencier A de B et C. Admettons que les paysans maintiennent les morphotypes A et B-C en fréquence similaire dans leurs champs. Au sein du morphotype B-C, les fréquences des clones B et C sont soumises simplement à la dérive. Si on admet que les critères personnels de classification ne sont pas exactement les mêmes pour les paysans, on peut alors avoir de façon globale un rapport A/(B-C) similaire entre les paysans mais des fréquences de A et B-C différentes selon les variétés.

(Hypothèse 3) Echange de tubercules en réseau.

On considère cette fois trois champs et trois variétés du groupe V1 cultivées en quantités similaires. Admettons que chaque variété ne fasse pas l'objet de flux de tubercules entre chaque paysan. Il s'établit alors un réseau qui fait que certaines variétés ont des fréquences de clones similaires entre deux des paysans mais peuvent être différentes de la même variété chez le dernier paysan. Cependant, le fait de posséder les trois variétés dans les champs fait que, de façon globale, les fréquences de clones sont similaires. Cette hypothèse s'accorde bien avec nos résultats.

En effet, nous avons montré qu'au niveau variétal, la diversité clonale est fortement structurée, notamment entre certains paysans. Ceci signifie que même si les paysans cultivent les mêmes clones sous un même nom, ils ne les cultivent pas forcément en proportions similaires. Si on admet que ces clones ne sont pas différents morphologiquement et que les paysans ne sont pas en mesure de les différencier, alors la fréquence des clones dans une variété chez un paysan évolue uniquement par dérive (on rappelle que le paysan renouvelle chaque année son champ en choisissant des tubercules dans sa récolte précédente). Dès lors, si les flux de tubercules entre les paysans sont faibles, il n'est guère étonnant de trouver des

clones en fréquences différentes chez des paysans différents. Dans certains cas pourtant, la différenciation clonale est faible. Dans ce cas, les flux de tubercules auraient été suffisamment importants (ou récents) pour maintenir des fréquences des clones similaires malgré la dérive. On a donc ici l'image de flux de tubercules structurés : certains paysans échangeraient certaines variétés avec certains paysans mais n'échangeraient pas ces variétés avec d'autres paysans. Ce schéma s'accorde bien avec les études de Baco (2004) qui montrent que les flux de tubercules se font en priorité dans le cadre familial, et donc que les paysans n'échangent pas leurs variétés avec tous les autres paysans.

B. Reproduction sexuée ou mutation : d'où vient la diversité des ignames cultivées ?

Nous avons montré qu'une partie de la diversité observée chez l'igname cultivée peut s'interpréter comme de la mutation. Nos résultats suggèrent que la diversité des ignames cultivées s'organise en variétés, créées à partir d'individus issus de reproduction sexuée, au sein desquelles la mutation est la principale source de création de diversité.

Ce constat s'accorde bien avec le mode de multiplication principalement asexué des ignames cultivées. En considérant un mode de reproduction strictement végétatif, où la seule source de diversité est la mutation, les allèles de chaque individu sont susceptibles de diverger en accumulant des mutations. Les individus sont donc attendus hautement hétérozygotes (Birky 1996). Une telle population doit donc maintenir un grand nombre d'allèles mais très peu de génotypes différents (Balloux et al. 2003). Nos résultats sont en accord avec ces attendus puisque dans chaque variété on observe peu de clones différents mais beaucoup d'allèles, et au final un taux d'hétérozygotes très fort.

En revanche, la diversité intra-variétale observée s'accorde mal avec l'idée que l'ennoblissement introduit des génotypes issus de reproduction sexuée dans les variétés. En effet, nous avons mis en évidence que, dans une même variété, la quasi-totalité des clones dérivent probablement par mutation d'un seul clone ancestral. On s'attendait au contraire à ce que l'utilisation de la reproduction sexuée par les paysans conduise à des variétés contenant à la fois des génotypes proches génétiquement, reliés par des événements de mutation, et des

génotypes très différents génétiquement, issus de reproduction sexuée. Chez le manioc, ces attendus se confirment puisque les variétés sont très polymorphes génétiquement (Elias et al. 2000).

Cette observation ne nous paraît pourtant pas mettre en doute l'importance des introductions de produits de reproduction sexuée dans le pool cultivé par les paysans. En effet, la situation de l'igname est différente de celle du manioc. Chez le manioc, il semble que la plupart des paysans introduisent des plantes issues de semis dans leurs variétés, non seulement à chaque cycle de culture mais en plus dans un grand nombre de variétés (Elias 2000). Chez l'igname, l'ennoblissement est pratiqué par peu de paysans (de 1% à 5% selon les enquêtes, Dumont 1998b, Baco 2000, Okry 2000, Houemassou Bossa 2001). Nous avons tout de même montré la diffusion d'individus ennoblis chez des paysans ne pratiquant pas l'ennoblissement. Les conséquences de l'utilisation de la reproduction sexuée par les paysans ne se limitent donc pas seulement aux paysans pratiquant l'ennoblissement. Cependant, cette pratique met en jeu peu de tubercules et ne permet donc pas des introductions massives de produits de reproduction sexuée. L'utilisation de la reproduction sexuée chez l'igname se fait donc en moins grande proportion que chez le manioc et ses conséquences ne doivent être visibles que sur des échelles de temps plus grandes.

De plus, il faut préciser que si l'ennoblissement d'un tubercule réussit, deux possibilités s'offrent au paysan. Soit le tubercule est intégré dans une variété, dans ce cas la variété s'enrichit d'un nouveau génotype, différent des autres génotypes présents, soit une nouvelle variété est créée à partir de ce tubercule. Dans ce cas, le pool cultivé s'enrichit d'une nouvelle variété, différente génétiquement des autres variétés, mais les variétés ne s'enrichissent pas d'un nouveau génotype. Cette nouvelle variété est ensuite susceptible d'évoluer par mutation et donc de présenter une diversité intra-variétale faible.

L'ennoblissement n'a donc pas des conséquences seulement sur la diversité intra-variétale. Il est tout à fait cohérent d'observer des variétés très peu polymorphes génétiquement alors que les paysans introduisent des produits de reproduction sexuée dans le pool cultivé. Il est probable que l'ennoblissement contribue davantage à créer des nouvelles variétés qu'à diversifier les variétés existantes, augmentant ainsi la diversité inter-variétale.

A long terme, cette création de nouvelles variétés permet sans doute de maintenir davantage de diversité génétique. En effet, un produit d'ennoblissement intégré dans une variété déjà existante n'est plus reconnu individuellement par les paysans. Dans ce cas, le risque de perdre ce génotype par dérive est fort, d'autant plus qu'il a été introduit en petit

nombre dans une variété cultivée en grande quantité. Au contraire, lorsqu'un produit d'ennoblissement devient une nouvelle variété, les paysans gèrent cette nouvelle variété indépendamment des autres et le risque de perdre ce génotype diminue. De plus, nous avons montré que les produits d'ennoblements sont diffusés chez des paysans ne pratiquant pas l'ennoblissement.

Compte tenu de toutes les informations acquises, on peut désormais envisager un schéma sur l'origine des variétés d'igname de l'ethnie Gando du village de Gorobani :

Chaque variété d'igname a été créée à partir d'un individu issu de reproduction sexuée. Suite à sa création, chaque variété évolue ensuite principalement par des phénomènes de mutation et de dérive. Les migrations (soit depuis une autre variété soit par ennoblissement d'un produit de reproduction sexué nouveau) jouent actuellement un rôle limité dans la diversification intra-variétale des variétés d'ignames cultivées. Puis, pour des raisons culturelles, une divergence des noms peut entraîner la "création" de nouvelles variétés, synonymes génétiquement à la variété d'origine, c'est-à-dire la création de groupes de variétés portant des noms différents mais issues du même produit de reproduction sexuée. Nous discuterons de ce scénario dans la dernière partie de ce document.

DISCUSSION GENERALE.

CONCLUSION

Une synthèse des principaux résultats obtenus ouvre ce chapitre. Puis, nous discuterons de nos résultats en relation avec l'évolution et l'organisation de la diversité des plantes à multiplication végétative en général, en rapport avec le mode de reproduction mixte sexué/asexué maintenu par les paysans. Enfin, nous verrons quelles implications ont nos résultats en termes de conservation de la diversité des ignames.

I. Synthèse des résultats

A. Niveau de ploïdie

Par l'analyse d'une descendance d'autofécondation d'une plante monoïque, nous avons montré la diploïdie de l'espèce cultivée *D. rotundata*, jusque là supposée tétraploïde. Nos analyses de diversité nous laissent fortement supposer que les espèces sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis* sont aussi diploïdes.

B. Hybridations interspécifiques et ennoblissement

Les relations entre le compartiment sauvage et le compartiment cultivé ont été tout d'abord étudiées au niveau d'un village, puis nous avons généralisé nos conclusions à d'autres régions écologiques et culturelles. La Figure 17 résume les points que nous avons démontrés ou que nous pouvons suspecter grâce à cette étude.

Nous avons tout d'abord montré l'existence d'un flux depuis le compartiment cultivé vers le compartiment sauvage. En effet, une analyse de descendance collectées sur des ignames femelles de l'espèce sauvage *D. abyssinica* et de l'espèce cultivée *D. rotundata* dans une zone de sympatrie, a montré l'existence d'hybridations interspécifiques et intra-

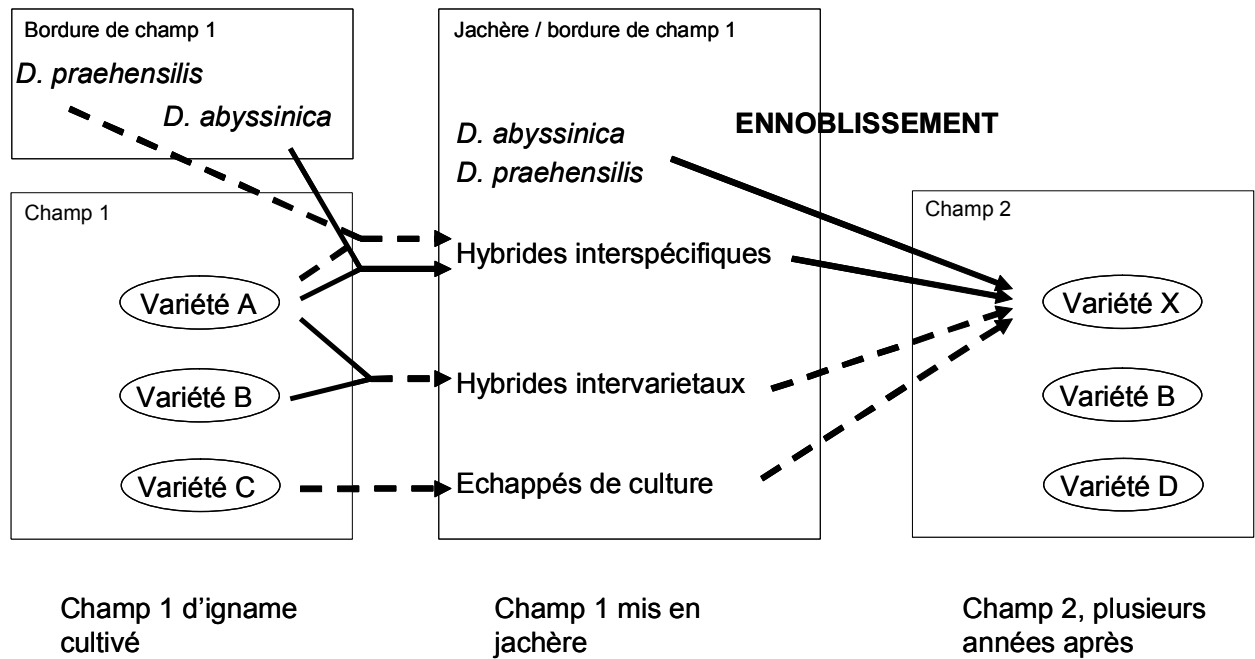


Figure 17. Illustrations des données actuelles sur le flux sauvage/cultivé lié à l'ennoblissement.

Les flèches pleines indiquent les points que nous avons montrés, les flèches en pointillés les points que nous suspectons mais que nous n'avons pas vérifiés génétiquement.

spécifiques. L'analyse de populations sauvages dans tout le Bénin nous a ensuite permis de montrer la survie en milieu naturel de ces hybrides ainsi que d'hybrides entre l'espèce sauvage *D. praehensilis* et l'espèce cultivée. Cette analyse nous a aussi permis de mettre en évidence la survie d'individus de génotypes cultivés en milieu naturel. D'un point de vue génétique, nous ne sommes pas capables de dire si ces individus sont des hybrides intervariétaux ou des échappés de culture.

Nous avons ensuite montré l'existence d'un flux depuis le compartiment sauvage vers le compartiment cultivé, par le biais de l'ennoblissement. Nous avons tout d'abord travaillé dans un seul village du Bénin. L'analyse des populations sauvages et cultivées locales ainsi que des individus pré-ennoblis nous a permis de montrer que les paysans sélectionnent des individus sauvages et hybrides interspécifiques pour les ennoblir, confirmant ainsi par une analyse génétique les dires paysans. Nous avons cependant montré qu'un grand nombre d'individus pré-ennoblis sont de génotype cultivé et peuvent donc être soit des hybrides intervariétaux, soit des échappés de culture. Nos résultats nous permettent aussi d'affirmer que l'ennoblissement réussit dans certains cas et conduit les paysans à mettre en culture des individus issus de reproduction sexuée. A travers l'analyse de la diversité des variétés d'igname de ce village, nous avons montré que les paysans enrichissent le pool cultivé en créant de nouvelles variétés plutôt qu'en introduisant de la diversité dans des variétés déjà existantes. Nous avons aussi mis en évidence la diffusion de ces produits d'ennoblissement chez des paysans ne pratiquant pas l'ennoblissement.

Une analyse similaire a été réalisée dans différentes régions écologiques et culturelles du Bénin et nous a permis de retrouver la trace de l'introduction de produits de reproduction sexuée dans le compartiment cultivé dans d'autres villages.

Cette étude révèle donc qu'à travers l'ennoblissement, les paysans utilisent la reproduction sexuée des ignames sauvages et des ignames cultivées. Ils contribuent ainsi à enrichir leur pool cultivé avec de nouveaux allèles et de nouvelles combinaisons génétiques. Cette utilisation de la reproduction sexuée permet de maintenir les processus évolutifs, créateurs de diversité, chez cette plante à multiplication végétative.

C. Structuration génétique et gestion variétale

Notre but était d'étudier l'organisation de la diversité des ignames cultivées et d'en déduire comment le mode de reproduction de la plante et la gestion paysanne pouvaient influencer cette organisation. Ce travail a été fait dans un seul village et auprès de paysans d'une même ethnie.

Tout d'abord, nous avons analysé la diversité génétique des variétés d'igname de quelques paysans. La diversité intra-variétale obtenue est faible et les variétés très différentes génétiquement les unes des autres. Nos résultats suggèrent que les variétés d'igname ont été créées à partir de produit de reproduction sexuée, puis qu'elles ont évolué par mutation. Les variétés telles qu'elles sont définies par les paysans ont donc une signification génétique réelle. On note cependant l'existence de groupes de variétés. Ces variétés ont des noms différents mais sont synonymes génétiquement : les paysans ont nommé différemment des tubercules appartenant à une même variété.

Enfin, nous avons analysé la diversité gérée par les paysans au niveau de leurs champs. Nous avons montré que les paysans cultivent chacun des pools génétiques similaires. En effet, les paysans avec lesquels nous avons travaillé appartiennent tous à la même ethnie et partagent les mêmes préférences variétales. Ils cultivent donc globalement les mêmes variétés. De plus, ces paysans ont tous la même définition des variétés et cultivent donc sous un même nom les mêmes génotypes, même si leur fréquence peut varier d'un paysan à l'autre.

II. Le niveau de ploïdie de l'igname revisité

Les ignames africaines sont depuis toujours considérées comme polyploïdes avec un nombre chromosomique de base de 10. Cependant, nos résultats sur les espèces africaines *D. rotundata*, *D. abyssinica* et *D. praehensilis* ainsi que ceux obtenus sur des espèces asiatiques (*D. alata*) et caraïbes (*D. trifida*) (Malapa 2005, M. Bousalem com. pers.), remettent en cause cette hypothèse.

Cette hypothèse est en effet ancienne et repose sur la seule observation de quelques espèces tempérées d'igname à 20 chromosomes dans des sections botaniques très différentes (Miège 1952). Pourtant, l'évaluation de la quantité d'ADN par comptage chromosomique ou cytométrie en flux indique que les espèces africaines, l'espèce asiatique *D. alata* et l'espèce caraïbe *D. trifida* ont au minimum 40 chromosomes (Miège 1952, Zoundjihèkpon et al. 1990, Gamiette et al. 1999, Egesi et al. 2002, Malapa 2005). De plus, les analyses de ségrégations de marqueurs microsatellites et d'hybridation *in situ* (FISH) chez *D. trifida* et *D. alata* indiquent que le nombre chromosomique de base serait de 20 (Malapa 2005, M. Bousalem com. pers.), comme nous l'avons montré pour les ignames africaines *D. rotundata*, *D. abyssinica* et *D. praehensilis*. Enfin, une phylogénie moléculaire réalisée par M. Bousalem (com. pers.) indique que les espèces à 20 chromosomes se situent à la base de l'arbre, ce qui suggère que ce caractère est ancestral. On peut alors supposer que les espèces à 40, 60 ou 80 chromosomes seraient apparues par polyploïdisation à partir des espèces à 20 chromosomes puis auraient subi des phénomènes de diploïdisation.

De tels phénomènes de polyploïdisation/diploïdisation sont fréquents dans l'évolution des espèces végétales, mais aussi animales. Des plantes telles que le maïs, le soja, les choux ou l'arabette (genres *Zea*, *Glycine*, *Brassica* et *Arabidopsis*) sont désormais considérées comme des paléopolyploïdes diploïdisés (Wendel 2000, Bennett 2004). La mise en évidence de segments chromosomiques dupliqués ou d'appariement de chromosomes non homologues suggère l'origine polyploïde des génomes de ces plantes habituellement considérées comme diploïdes (ex. *B. nigra* Lagercrantz et Lydiate 1996, *G. soja* Shoemaker et al. 1996, *Z. mays* Helentjaris et al. 1988, *A. thaliana* The *Arabidopsis* Genome Initiative 2000). Des expériences de polyploïdisation artificielle ont montré que des réarrangements génomiques importants se produisent rapidement après un événement de polyploïdisation. Chez le genre *Brassica*, Song et al. (1995) ont mis en évidence des pertes et des gains de fragments RFLP entre des parents

polyploïdes synthétiques et leurs descendances F₅ dans plus de 45% des sondes RFLP analysées. Ces réarrangements s'expliqueraient par une instabilité génétique des nouveaux polyploïdes. De la même façon, Feldman et al. (1997) ont mis en évidence des pertes de séquences d'ADN dans la descendance d'autofécondation d'un polyploïde synthétique entre *Triticum turgidum dicocoides* et *Aegilops tauschii*. De tels réarrangements génomiques pourraient conduire à une diploïdisation complète suite à un évènement de polyploïdisation.

Il est évident que le peu de données disponibles sur le génome de l'igname ne permet pas de construire des scénarios évolutifs comme chez le maïs (ex. Gaut et Doebley 1997, Ilic et al. 2003). Pourtant, le développement de cartes génétiques (Mignouna et al. 2002) et l'utilisation d'hybridation *in situ* (FISH) pourraient permettre, dans un premier temps, d'étudier l'existence de marqueurs dupliqués. Ces marqueurs pourraient en effet être révélateurs d'un ancien évènement de polyploïdisation.

A l'heure où on a tendance à considérer les espèces traditionnellement reconnues diploïdes comme des paléopolyploïdes, il peut sembler paradoxal que l'on cherche à mettre en évidence la diploïdie de l'igname cultivée *D. rotundata*. Cependant, il nous semble important d'insister sur le comportement diploïde de cette espèce et des espèces sauvages apparentées (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*), notamment en raison des conséquences que cela peut avoir sur les études génétiques futures (utilisation des statistiques développées pour les organismes diploïdes, cartographie, etc.) et sur les programmes d'amélioration utilisant la reproduction sexuée (simplification des schémas de ségrégation des caractères, etc.).

III. Evolution de la diversité chez une plante à multiplication végétative en relation avec les pratiques paysannes

A. Un mode de reproduction mêlant sexualité et asexualité au sein d'un complexe sauvage-cultivé

L'étude génétique du processus d'ennoblissement révèle que les paysans intègrent dans le pool cultivé des individus issus de la reproduction sexuée des ignames sauvages et cultivées. Les individus ennoblis de génotype cultivé peuvent être soit des échappés de culture, soit des hybrides inter-variétaux. On imagine que l'introduction dans le pool cultivé d'échappés de culture n'apporte rien en termes de diversité puisque ces génotypes y sont sans doute encore présents. Par contre, compte tenu de la différenciation génétique forte entre les variétés, on s'attend à ce que des hybridations inter-variétales produisent des génotypes uniques et nouveaux. L'introduction de ces génotypes contribue donc à enrichir le pool cultivé de nouvelles combinaisons. De la même façon, l'introduction de génotypes sauvages et hybrides contribue à enrichir le pool cultivé de nouveaux allèles issus du pool sauvage.

Bien que les paysans n'en aient pas conscience, le processus que l'ennoblissement met en jeu n'est autre que la reproduction sexuée des ignames cultivées et des ignames sauvages. Cette utilisation conjointe de la multiplication végétative et de la reproduction sexuée n'est pas spécifique à l'igname. Elle a été décrite ou suggérée chez d'autres plantes à multiplication végétative. Le modèle igname présente cependant des particularités.

1. Comparaison du cas de l'igname à celui d'autres plantes à multiplication végétative

Chez la pomme de terre (*Solanum* spp.), peu d'analyses ont étudié le régime de reproduction de cette plante en milieu traditionnel. Cependant, dans les Andes, Johns et Keen (1986) suggèrent l'intégration dans les variétés cultivées d'hybrides interspécifiques entre les espèces cultivées et sauvages.

Le cas le mieux étudié est celui du manioc (*Manihot esculenta*) en Amazonie. Empereire et al. (1998) et Elias et McKey (2000), notamment, indiquent l'existence d'une banque de graines et sa germination lors de la mise en place d'un nouveau champ de manioc. Compte tenu du système de reproduction allogame du manioc et de l'absence de formes sauvages dans les sites d'études, ces graines seraient issues d'hybridations inter-variétales. Les plantules ne sont pas éliminées des champs et certains individus sont récoltés de la même façon que les variétés cultivées. Ces individus sont alors intégrés à une variété proche morphologiquement ou deviennent une nouvelle variété avec un nom et des caractéristiques morphologiques particulières. Tous les individus issus de graines étant différents génétiquement, ils contribueraient à augmenter la diversité génétique intra-variétale (Elias et al. 2000). Elias (2000) suggère même que toutes les variétés de manioc soient polyclonales. Cette affirmation est à nuancer tout de même car les analyses ont été réalisées sur peu d'individus (3 à 5 par variétés) et avec des marqueurs AFLP, dont la reproductibilité est moins bonne que les microsatellites. La diversité révélée est donc peut-être exagérée. De plus, l'analyse réalisée n'estime pas la proximité des différents génotypes observés dans une même variété.

Les cas du manioc et de l'igname diffèrent sur trois points principaux. D'une part, l'intégration de produits de reproduction sexuée semble quantitativement importante chez le manioc (beaucoup de paysans sélectionnent beaucoup de semis chaque année) alors qu'elle est faible chez l'igname (peu de paysans introduisent peu de produits de reproduction sexuée). Ensuite, Elias et al. (2000) suggèrent que les paysans introduiraient majoritairement des produits de reproduction sexuée dans des variétés existantes alors que chez l'igname nos résultats suggèrent que les paysans créent de nouvelles variétés. Enfin, dans le cas du manioc la reproduction sexuée ne met en jeu que l'espèce cultivée alors qu'elle met en jeu l'espèce cultivée et les espèces sauvages apparentées chez l'igname. Il y a donc possibilité d'introduire des allèles nouveaux chez l'igname. De plus, contrairement au manioc, les variétés d'ignames ont des capacités de floraison et de fructification limitées. L'utilisation des espèces sauvages permettrait donc de suppléer la sexualité défailante de l'espèce cultivée.

Dans le cas de l'igname, du manioc et peut-être de la pomme de terre, on observe un mode de reproduction mixte : d'une part le paysan impose une multiplication asexuée, d'autre part il continue d'utiliser la reproduction sexuée de ses plantes. Chez d'autres plantes à multiplication végétative comme le taro (*Colocasia esculenta*), la patate douce (*Ipomoea batatas*) ou l'ensète (*Ensete ventricosum*, communément appelé faux bananier), l'utilisation

par les paysans de la reproduction sexuée n'est pas documentée. Cependant, ces espèces ont conservé leur capacité à se reproduire sexuellement. De plus leur mode de reproduction essentiellement allogame et la très grande diversité génétique observée (ex. taro : Lakhanpaul et al. 2003, patate douce : Zhang et al. 1998, ensète : Birmeta et al. 2002) suggèrent fortement que la reproduction sexuée a été ou est encore utilisée en milieu traditionnel.

Pourquoi ce régime de reproduction mixte semble-t-il si communément répandu chez les plantes à multiplication végétatives cultivées en milieu traditionnel ? Afin de répondre à cette question, nous décrirons brièvement quelques modèles proposés pour expliquer les avantages et inconvénients pour un organisme à se reproduire sexuellement, asexuellement ou selon un régime mixte. Nous verrons ensuite comment ces modèles peuvent s'appliquer au cas des plantes à multiplication végétative cultivées en milieu traditionnel.

2. Les avantages d'un mode de reproduction mixte. La théorie.

Partant de l'observation que la majorité des espèces animales comme végétales se reproduisent sexuellement et que des taxons se multipliant uniquement par voie asexuée sont rares, on peut supposer que la reproduction sexuée est plus avantageuse que la multiplication asexuée. C'est une question qui fait débat depuis longtemps et de nombreuses théories ont essayé d'expliquer en quoi la reproduction sexuée pourrait être si avantageuse (une revue de différentes théories est disponible dans Hurst et Peck 1996 et Barton et Charlesworth 1998, nous ne décrivons ici que brièvement les théories principales).

A court terme, la reproduction asexuée est le meilleur parti. En effet, chaque parent ne transmet que 50% de son génome *via* la reproduction sexuée contre 100% en reproduction asexuée (coût de la méiose, Williams 1975 dans Green et Noakes 1995). De plus, en admettant que chaque femelle produise deux descendants à chaque génération, une population asexuée double à chaque génération tandis qu'une population sexuée reste de taille constante, un des deux descendants étant forcément un mâle (coût de production des mâles, Maynard Smith 1971 dans Green et Noakes 1995). Enfin, la reproduction asexuée permet de maintenir des combinaisons avantageuses alors qu'elles sont cassées par la recombinaison en reproduction sexuée (fardeau de recombinaison, Crow 1970 dans Barton et Charlesworth 1998).

La plupart des théories émises pour expliquer la prédominance de la reproduction sexuée se basent sur un avantage à long terme. Les trois théories principales, l'effet de Fisher/Muller, le cliquet de Muller et la théorie de la Reine Rouge, suggèrent toutes que la

reproduction sexuée permettrait de résister à l'accumulation de mutations délétères et de s'adapter plus rapidement à des transformations du milieu, en d'autres termes d'évoluer plus vite (Gouyon et al. 1997). D'après la théorie de Fisher/Muller (Muller 1932 dans Barton et Charlesworth 1998 et Gouyon et al. 1997), les mutations favorables se fixent plus lentement si la population est asexuée. En effet, chaque mutation favorable doit apparaître dans une même lignée. Au contraire, dans une population sexuée, la recombinaison permet de regrouper ces mutations même si elles sont apparues dans des lignées différentes. Selon la théorie du cliquet de Muller (Muller 1964 dans Barton et Charlesworth 1998 et Gouyon et al. 1997), les mutations défavorables s'accumulent irrémédiablement dans une population asexuée alors que dans une population sexuée, la recombinaison permet de régénérer des combinaisons avec moins de mutations délétères. Enfin, la théorie de la Reine Rouge (van Valen 1973 dans Gouyon et al. 1997) se base sur l'idée que dans un environnement en évolution constante, l'effort d'adaptation doit être constant. Dans ce cas, la reproduction sexuée serait avantageuse car, en créant plus rapidement de nouvelles combinaisons génétiques que la reproduction asexuée, elle permettrait une adaptation plus rapide.

A ces hypothèses, difficiles à démontrer, on peut aussi rajouter des avantages à court terme de la reproduction sexuée. Par exemple, dans le cas des pucerons, principalement parthénogénétiques, les œufs sont la seule forme capable de supporter l'hiver (Gouyon et al. 1997). D'autre part, si la multiplication asexuée permet de coloniser rapidement des espaces proches, la reproduction sexuée permet de diffuser et de coloniser des espaces plus éloignés (Gouyon et al. 1997). Chez l'igname, les tubercules accumulent des virus au cours des cycles de multiplication végétative. Or, le passage par la reproduction sexuée permet d'éliminer ces virus (Urbino et al. 1998). On note que l'une des motivations de certains paysans pratiquant l'ennoblissement est de retrouver des variétés plus saines. Cette nécessité de saniter leurs plantes est sans doute une des raisons principales (conscientes ou inconscientes) au maintien de la pratique de l'ennoblissement.

Le régime de reproduction mixte sexualité/asexualité des plantes à multiplication végétative ne correspond pas exactement à ces théories où les populations sont supposées complètement sexuées ou complètement asexuées. *A priori* il peut sembler avantageux de combiner sexualité et asexualité afin de cumuler les avantages de chacun des régimes. On trouve cependant des avis contradictoires dans la littérature.

Green et Noakes (1995) montrent par le biais de simulations que pour des populations à deux locus, la vitesse d'invasion d'un double mutant favorable est la même pour une

population complètement sexuée et une population avec seulement 20% de reproduction sexuée. De plus, cette vitesse est très similaire pour une population complètement sexuée et une population avec seulement 2% de reproduction sexuée. Ces auteurs en déduisent qu'une faible proportion de sexualité permet de conserver les avantages liés au sexe. De leur côté, Peck et Waxman (2000) ont étudié le fonctionnement de populations à deux locus où les hétérozygotes sont avantagés par rapport aux homozygotes. Dans ce cas, une population complètement asexuée fixera les hétérozygotes tandis qu'une population partiellement sexuée conservera une faible proportion d'homozygotes, moins performants que les hétérozygotes. Une population partiellement sexuée serait alors moins performante qu'une population complètement asexuée. Ceci conduirait forcément au maintien uniquement de populations très fortement sexuées ou complètement asexuées.

Face à des travaux si contradictoires il est difficile de tirer des conclusions quant à l'avantage que pourrait ou non procurer un régime de reproduction mixte sexué/asexué chez les plantes à multiplication végétative. Il y a cependant un point qui n'est pas intégré dans toutes ces études théoriques : le rôle du paysan.

3. Les avantages d'un mode de reproduction mixte. Le rôle du paysan.

Chez le manioc comme chez l'igname, et sans doute chez d'autres plantes à multiplication végétative où le paysan introduirait activement des plantes issues de graines dans le pool cultivé, le paysan n'introduit pas n'importe quelles plantes dans le pool cultivé.

Certes, la reproduction sexuée produit un mélange de génotypes de bonne qualité (avantage lié à l'hétérozygotie, génome contenant peu de mutations délétères) et de mauvaise qualité (dépression de consanguinité, homozygotie trop forte, accumulation de mutations délétères). Cependant, une première sélection naturelle élimine les individus incapables de survivre ou peu compétitifs. Puis le paysan choisit, parmi les individus restants, ceux qu'il juge de bonne qualité et qu'il introduira dans le compartiment cultivé. Le choix du paysan peut se faire en plusieurs étapes avec un test des individus dans un premier temps, puis l'adoption ou le rejet de ces individus.

C'est ainsi que chez l'igname, les paysans sélectionnent les plantes parmi des ignames vivant en milieu non cultivé (ancienne jachère ou savane) et ayant déjà quatre à cinq ans selon Baco (2000). Il s'agit donc de plantes qui se sont montrées capables de survivre sans intervention humaine et qui ont sans doute été déjà sélectionnées naturellement pour leurs capacités à survivre en milieu sauvage. Chez le manioc, Kawano et al. (1978) indiquent que le

manioc est sujet à une forte dépression de consanguinité conduisant à une chute du rendement de près de 50%. L'introduction de telles plantes dans le pool cultivé aurait donc des effets négatifs sur la production. Cependant, Pujol et al. (2005) montrent que, au moment du désherbage de leurs champs, les paysans éliminent préférentiellement les maniocs de petite taille. Or, la taille des jeunes maniocs étant corrélée positivement à l'hétérozygotie, les paysans éliminent préférentiellement les maniocs les plus homozygotes et potentiellement affectés par de la dépression de consanguinité. Le choix des plantes à introduire dans le pool cultivé se fait donc dans une population déjà sélectionnée pour son hétérozygotie.

Contrairement aux populations théoriques de Peck et Waxman (2000) où il y a recrutement d'individus peu performants, le choix paysan permet d'éviter l'introduction de ces individus peu performants. Les individus de mauvaise qualité n'auraient donc pas de conséquences négatives sur le pool cultivé. Tous les individus présentant un génotype intéressant seront multipliés à l'identique par le biais de la reproduction asexuée. Cependant la capacité d'évolution du pool cultivé ne serait pas remise en cause puisque la reproduction sexuée est maintenue. L'intervention du paysan permettrait donc de cumuler les effets positifs de la sexualité (création de diversité et donc potentiel adaptatif accru) et de l'asexualité (multiplication à l'identique des génomes les mieux adaptés) sans pour autant souffrir de leurs effets négatifs.

B. Interactions entre le mode de reproduction et les pratiques paysannes

Le mode de reproduction des plantes et les pratiques paysannes interfèrent pour structurer la diversité des plantes cultivées. Par exemple, dans le cas du manioc (Elias et al. 2000), mais aussi du riz (Portères 1957), les paysans contribuent directement à maintenir une diversité génétique forte au sein de leurs variétés alors que les modes de reproduction de ces plantes (asexué pour le manioc et autogame pour le riz) devraient induire une diversité génétique faible. Dans ces deux exemples, pratiques paysannes et mode de reproduction ont des conséquences opposées sur la structure intra-variétale de la diversité génétique. Chez l'igname au contraire, pratiques paysannes et mode de reproduction se renforcent mutuellement.

Nos résultats nous ont permis d'élaborer un schéma de la dynamique de la diversité des ignames cultivées et des éléments structurant cette diversité :

Création de diversité

Dans le schéma proposé, chaque variété a été créée à partir d'un produit de reproduction sexuée. L'igname est multipliée de façon strictement végétative par les paysans et peu d'entre eux sont actuellement capables de créer de nouvelles variétés. Cependant, les paysans pratiquant l'ennoblissement sont en mesure d'utiliser les produits de reproduction sexuée de l'igname. La création de variété se fait à partir d'individus sauvages, d'hybrides sauvage/cultivé ou de descendants de cultivés. La diversité introduite dans le compartiment cultivé concerne donc à la fois de nouvelles combinaisons génétiques et de nouveaux allèles.

Le processus de création variétale ne s'est donc pas arrêté dans les premières phases de la domestication de l'igname, il est encore en cours aujourd'hui. Les variétés nouvellement créées peuvent ainsi progressivement remplacer les variétés anciennes perdues au cours du temps.

Suite à cette création de variétés, la reproduction sexuée n'intervient plus et les plantes sont multipliées par les paysans selon un mode de multiplication strictement végétatif. Seules la mutation et la migration peuvent encore créer de la diversité à l'intérieur des variétés. On ne peut exclure que certaines mutations donnent lieu à des phénotypes différents et conduisent les paysans à créer de nouvelles variétés.

Compte tenu de la fiabilité des classifications paysannes, les migrations de tubercules entre des variétés issus de produits de reproduction sexuée différents sont limitées. Ces migrations n'ont aucun effet sur la diversité génétique globale du compartiment cultivé et elles ont un effet peu important au niveau intra-variétal. En effet, un migrant a de fortes chances d'être perdu par dérive car il arrive en très faible fréquence. De plus, si cet individu est différent morphologiquement de la variété où il a été introduit, il est probable que le paysan l'élimine car il ne correspond pas au morphotype de cette variété. La diversité au sein des variétés évolue donc essentiellement par mutation.

Les mutations créent des génotypes très proches génétiquement des génotypes d'origine. A moins que la mutation ne soit associée à une modification phénotypique forte, il est peu probable que les paysans aient conscience de la diversité présente dans leurs variétés. Nous les avons d'ailleurs interrogés pour avoir leur perception de la diversité. Ils nous ont

tous affirmé que tous les individus d'une même variété sont identiques. On imagine que dans ce cas la fréquence des différents génotypes est essentiellement soumise au phénomène de dérive et de mutation. L'évolution de la diversité intra-variétale ne dépend donc pas d'une volonté consciente du paysan de maintenir ou d'éliminer ces mutations. Cependant, par son choix de cultiver plus ou moins de tubercules chaque année, il va provoquer des effets de dérive plus ou moins forts et donc jouer sur l'érosion génétique. De la même façon, plus le paysan cultive de tubercules, plus la probabilité qu'une mutation apparaisse est élevée

Enfin, la diversification des ignames cultivées touche aussi les dénominations variétales, indépendamment de la génétique. En effet, suite à la création et à la dénomination d'une variété, les paysans sont susceptibles d'en faire évoluer le nom. C'est ainsi que l'on observe des variétés synonymes génétiquement mais portant des noms différents. La divergence des noms de variété crée donc une diversité artificielle qui ne permet pas de présumer de la diversité génétique réelle.

Diffusion et structuration de la diversité

Suite à sa création, la diversité génétique est diffusée de deux façons différentes. Tout d'abord, les paysans acquièrent des variétés qu'ils ne possèdent pas auprès d'autres paysans. Ceci permet la diffusion des nouvelles variétés créées à partir de produits de reproduction sexuée vers des paysans ne pratiquant pas l'ennoblissement. Ensuite, les paysans acquièrent des tubercules de variétés qu'ils possèdent déjà auprès d'autres paysans cultivant la même variété. Ces flux de tubercules entre paysans limitent la perte de diversité intra-variétale en évitant la fixation d'un seul génotype chez les paysans.

Grâce à cette diffusion des tubercules, l'extinction d'une variété chez un paysan ne conduit pas à une perte irrémédiable de diversité, ni au niveau intra-variétal, ni au niveau du compartiment cultivé en général.

Différentes contraintes sociales régissent la gestion paysanne des variétés et influent sur la structure génétique du compartiment cultivé.

D'une part, les paysans ont une très bonne connaissance de leurs variétés et leurs classifications sont fiables et précises. Ceci permet de maintenir une différenciation variétale forte.

Ensuite, les migrations de tubercules sont régies par les liens affectifs entre les paysans : les flux de tubercules se font en majorité dans le cadre familial et avec les amis.

Dans ces conditions, on observe une structuration la diversité intra-variétale. Les paysans échangeant fréquemment des tubercules d'une même variété cultivent les mêmes génotypes en fréquences similaires alors que les paysans n'échangeant pas de tubercules cultivent des génotypes différents dans la même variété. Cette structuration ne concerne cependant que des génotypes dérivant les uns des autres par mutation.

Enfin, les paysans d'une même ethnie partagent les mêmes goûts variétaux et cultivent donc globalement les mêmes variétés. On retrouve en effet les mêmes variétés majeures chez tous les paysans d'une même ethnie et les différences ne se font que sur les variétés mineures cultivées en faible quantité. En conséquence, au niveau d'une même ethnie, la diversité génétique se structure peu entre les paysans et chacun cultive le même pool génétique.

C. Evolution du complexe sauvage/cultivé

Chez l'igname, nous avons mis en évidence des flux de tubercules du compartiment sauvage vers le compartiment cultivé *via* la pratique de l'ennoblissement. Si cette pratique est ancienne, pourquoi observe-t-on une différenciation génétique entre les compartiments sauvage et cultivé ? Deux hypothèses non exclusives pourraient expliquer ce résultat.

Tout d'abord, le taux de migration du compartiment sauvage vers le compartiment cultivé est faible. Nous avons en effet mis en évidence qu'une grande partie des individus pré-ennoblis sont de génotype cultivé et correspondent soit à des hybrides inter-variétaux soit à des échappés de culture. La majeure partie des individus réellement introduits dans le compartiment cultivé correspondent donc à des hybrides inter-variétaux. Dans ce cas, la différence entre les compartiments sauvage et cultivé pourrait se maintenir.

Ensuite, il existe des changements floristiques importants entre l'Afrique de l'Ouest et l'Afrique centrale, correspondant aux climats guinéen d'une part et congolais d'autre part (ex. Berthaud 1984). Chez l'igname, on observe une structuration géographique similaire : Tostain et al. (2002) ont montré à l'aide de marqueurs AFLP que l'espèce sauvage *D. praehensilis* ouest-africaine se différencie génétiquement de la même espèce collectée au Cameroun. Certains auteurs supposent que l'igname cultivée aurait été domestiquée au Nigeria (Hahn et al. 1987). Si l'igname cultivée a été domestiquée à partir d'espèces sauvages de la zone

floristique centre-africaine, alors elle doit être très différente génétiquement des ignames sauvages rencontrées dans la zone floristique ouest-africaine. L'ennoblissement serait alors un phénomène trop récent pour induire une absence de différenciation entre espèces sauvages et cultivées au Bénin. Des études génétiques réalisées sur un vaste échantillonnage couvrant l'Afrique de l'Ouest et l'Afrique Centrale permettraient de confirmer cette hypothèse, dans le cas où les ignames cultivées s'avèreraient plus proches génétiquement des ignames sauvages centre-africaines que des ignames ouest-africaines.

IV. Quelques implications pour la conservation des ressources génétiques de l'igname

La culture de l'igname est aujourd'hui soumise à de fortes tensions en Afrique. D'une part, les conditions de culture ne s'améliorent pas (absence de mécanisation, difficulté à se procurer des semences, baisse de la fertilité des sols, baisse du rendement des variétés, maladies, Vernier 1998). D'autre part, les paysans se tournent de plus en plus vers des cultures de rentes comme celle du coton ou des cultures plus intensives comme le maïs, moins coûteuse en temps de travail et susceptibles de mieux faire face à la pression démographique croissante. L'une des conséquences envisageables est que, malgré l'attachement des populations locales à l'igname, les paysans abandonnent progressivement les variétés les moins productives, conduisant ainsi à une érosion de la diversité génétique. Si l'introduction de quelques variétés améliorées au Bénin ne semble pas encore avoir de conséquences, force est de constater qu'en Côte d'Ivoire, la production de l'espèce asiatique *D. alata* dépasse celle de l'espèce africaine *D. rotundata* (Dumont 1998a).

La diversité génétique des ignames sauvages est elle-aussi menacée. Dans le sud du Bénin, *D. praehensilis* se rencontre uniquement dans des lambeaux de forêts de plus en plus menacés par la pression démographique. Ces forêts sont pour beaucoup des forêts sacrées placées sous l'autorité d'un chef traditionnel qui en assure la gestion en harmonie avec les esprits (Allomasso 2001). Cependant, le respect de ces chefs traditionnels, tout comme les croyances ancestrales, se perdent et les forêts sont de plus en plus exploitées et menacées. Au nord du Bénin, les pressions démographiques et foncières font que les savanes sont de plus en plus mises en culture. Dans les deux cas, le risque est de voir disparaître les habitats naturels des espèces d'ignames sauvages.

Face à ces risques d'érosion, la conservation des ressources génétiques des ignames sauvages et cultivées devient encore plus nécessaire. Nos résultats permettent de faire quelques recommandations, tant pour une conservation de type *ex situ* que *in situ*. Avant d'en discuter, nous commencerons par évoquer un problème touchant directement les gestionnaires des ressources génétiques : la non-congruence des classifications génétique, agronomique et botanique des ignames.

A. Ennoblement et définition des espèces d'ignames

Un gestionnaire des ressources génétique se base sur les classifications botaniques pour nommer et gérer les ressources. La classification botanique des espèces d'igname se base sur des critères morphologiques (Hamon et al. 1995). Or, selon le principe de l'ennoblement, une plante sauvage peut présenter une morphologie cultivée lorsqu'elle est mise en culture. L'origine des changements morphologiques liés à l'ennoblement demeure une question non résolue (voir Encadré IV). Cependant, cette pratique crée une réelle confusion dans l'utilisation des noms d'espèces, particulièrement pour les espèces *D. abyssinica*, *D. praezensilis* et *D. rotundata*.

En effet, sur la base de marqueurs génétiques neutres, nous avons montré que les trois espèces *D. abyssinica*, *D. praezensilis* et *D. rotundata* sont différentes. Pourtant, un individu génétiquement *D. abyssinica* sera nommé *D. abyssinica* s'il est trouvé en savane mais sera nommé *D. rotundata* s'il est introduit dans le pool cultivé par le biais de l'ennoblement. C'est ainsi que l'on retrouve au sein du compartiment cultivé des individus appartenant génétiquement aux espèces *D. rotundata*, *D. abyssinica* et *D. praezensilis* ainsi que des hybrides interspécifiques.

Pour un gestionnaire des ressources génétiques, cela implique qu'une certaine proportion des accessions qu'il maintient sous le nom *D. rotundata* ne sont pas génétiquement des *D. rotundata*. Ces collections servant aussi à la diffusion et à l'utilisation du matériel, il est légitime de recommander une meilleure identification et classification des accessions. Dans ce cas, ces accessions devraient être référencées sous le terme "ignames cultivées de type *D. rotundata*". Puis leur nature génétique devrait être déterminée par marquage moléculaire avant de pouvoir les nommer "*D. rotundata*".

B. Conservation *ex situ*

Du fait du mode de reproduction principalement végétatif de l'igname, la conservation *ex situ* est délicate. La conservation de collections vivantes en stations expérimentales ou de collections *in vitro* conduit rapidement à de lourdes pertes (Hamon et al. 1992b) et la

Encadré IV

Quelles sont les bases biologiques de l'ennoblissement ?

La description de l'ennoblissement, telle qu'elle est donnée par les paysans, indique que la morphologie de certaines plantes peut passer d'un aspect sauvage à un aspect cultivé sous l'effet de stress. L'honnêteté des paysans ne nous semble pas devoir être mise en cause lorsque ceux-ci prétendent modifier la morphologie des plantes pré-ennoblies, surtout quand cette affirmation est répétée par des paysans différents, de villages, d'ethnies et de régions différentes au cours d'enquêtes différentes. Pourtant, comme le processus de l'ennoblissement n'a jamais été étudié dans son ensemble, personne n'a suivi la transformation d'une plante d'une morphologie sauvage à une morphologie cultivée.

L'existence de modifications morphologiques chez l'igname a été étudiée par Chikwendu et Okezie (1989). Ces auteurs ont noté que des plantes sauvages *D. praehensilis* mises en culture, sans passer par les stress liés à l'ennoblissement (double récolte, obstacle), présentent des changements morphologiques sans pour autant conduire à une morphologie de plante cultivée. Au contraire, les individus sauvages *D. abyssinica* maintenues en collection par l'INRAB (Institut National de Recherche Agronomique du Bénin) pendant 20 ans ne montrent aucune modification morphologique (Dumont et Vernier 2000). Tout comme dans le cas de l'expérimentation de Chikwendu et Okezie (1989), ces plantes ont été cultivées mais n'ont pas subi les stress pratiqués lors de l'ennoblissement. Il semble d'après ces deux résultats et d'après les résultats d'enquêtes (Baco 2000, Okry 2000, Dumont 1998b) que stresser la plante soit un élément important pour "transformer" une plante sauvage en plante cultivée. Cependant, Chikwendu et Okezie (1989) ont utilisé pour leur expérimentation des plantes ayant une morphologie typiquement sauvage. Au contraire, Baco (2000) indique que les paysans sélectionnent pour l'ennoblissement des plantes dont la morphologie se rapproche des plantes cultivées. Il n'est donc pas nécessaire que les modifications morphologiques soient aussi importantes que celles visibles sur la figure 12. Ceci, ainsi que l'absence de stress, pourrait peut-être expliquer pourquoi Chikwendu et Okezie (1989) n'ont pas obtenu de tubercules à morphologie cultivée.

L'existence de morphotypes préférentiellement sélectionnés par les paysans pour l'ennoblissement a été récemment analysée par Djedatin (2005) au Bénin. Cette étude montre que les paysans reconnaissent effectivement des groupes de morphotypes parmi les espèces sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis*, certains étant ennoblis, d'autres non. Cependant, il n'y a pas de consensus quant à la classification morphologique des individus dans ces groupes. De plus, l'analyse avec des marqueurs neutres ne permet pas de conclure à l'existence d'une signature génétique de la capacité à être ennoblis.

On ignore encore quels processus peuvent conduire à ces modifications morphologiques. On peut imaginer que déplacer une plante d'un milieu fermé et compétitif à un milieu ouvert et favorable puisse induire des changements morphologiques par plasticité phénotypique.

Encadré IV (suite)

La plasticité phénotypique est définie comme un changement dans le phénotype qui dépend de l'environnement (Via et al. 1995). En d'autres termes, un même génotype peut produire des phénotypes différents dans des environnements différents. Par exemple, Sultan (2003) a montré chez *Polygonum* sp. que les ressources allouées au développement des feuilles et des racines sont différentes selon les environnements et selon les espèces. Les mécanismes génétiques qui sous-tendent cette variation phénotypique sont encore mal connus. Via et al. (1995) recensent deux types d'effet génétiques : d'une part un même allèle exprimé dans des environnements différents pourrait avoir des effets différents sur le phénotype, d'autre part des locus régulateurs pourraient modifier l'expression des gènes selon les environnements. Les résultats obtenus sur par Chikwendu et Okezie (1989) sont difficilement interprétables en termes de plasticité phénotypique car peu d'informations sont données sur les témoins utilisés pendant l'expérimentation. Il n'est pas précisé par exemple si les individus placés en milieu sauvage et servant de témoins sont des individus différents de ceux placés en culture ou s'il s'agit de bouture de mêmes individus.

L'autre hypothèse qui pourrait expliquer les modifications morphologiques obtenues durant l'ennoblissement est l'existence de modifications épigénétiques. L'épigénétisme est défini comme les changements héréditaires d'expression des gènes non associés à des changements dans la séquence d'ADN (Wolffe et Matzke 1999). Ce terme renferme de nombreux processus comme des modifications des histones, de la méthylation d'ADN, de la conformation de la chromatine, l'action de petits ARN doubles brins, etc.

Les connaissances actuelles sur l'igname ne permettent pas d'apporter de réponses à la question des modifications morphologiques associées au processus d'ennoblissement. Il devient indispensable de mettre en place une expérience rigoureuse permettant de suivre ces modifications morphologiques au cours du processus d'ennoblissement et d'en rechercher les bases génétiques. L'étude du processus de l'ennoblissement pose deux problèmes majeurs. D'une part ce processus est long (3 à 6 ans en moyenne) et le risque d'échec est important. D'autre part, la nécessité de travailler en milieu naturel et en collaboration avec les paysans rend difficile la mise en place d'une expérience rigoureuse dans laquelle les différents facteurs sont suffisamment contrôlés pour espérer mettre en évidence quelque chose.

cryoconservation est limitée aux géotypes non récalcitrants (Malaurie et al. 1993). De plus, ces méthodes de conservation sont lourdes et coûteuses et les pays africains, principaux concernés par la conservation de l'igname, ne sont pas tous capables d'y faire face. Cependant, les résultats obtenus dans cette étude nous permettent de faire quelques recommandations pour un échantillonnage visant à faire une collection *ex situ*.

Notre étude auprès de paysans de l'ethnie Gando du village de Gorobani révèle que les variétés telles qu'elles sont définies par les paysans ont une signification génétique réelle. Cependant, il existe des groupes de variétés, correspondant à des variétés de noms différents mais identiques génétiquement et sur la base des critères paysans de classification. Selon nos hypothèses, chaque groupe de variétés correspond à un produit de reproduction sexuée et se diversifie uniquement par mutation.

Dans ces conditions, un échantillonnage visant à capturer un maximum de diversité doit se concentrer en priorité sur la représentation d'un maximum de groupes de variétés. Chaque groupe de variétés doit être représenté chacun par peu d'accessions prises chez peu de paysans, l'idéal étant un seul individu par groupe de variétés. La diversité intra-groupe de variétés étant essentiellement représentée par des mutants, il ne semble pas important d'essayer de la représenter, d'autant plus que la faible fréquence de ces mutants conduirait à un effort d'échantillonnage trop important par rapport à la diversité apportée. Un tel échantillonnage permettrait de représenter chaque produit de reproduction sexuée.

Les groupes de variétés génétiques ne sont pas forcément faciles à mettre en évidence sur le terrain. On peut donc choisir de représenter un individu par variété. Puis un test génétique permettra, si nécessaire, d'éliminer les doublons.

Nous manquons d'études génétiques à grande échelle pour savoir comment s'organise la diversité dans d'autres ethnies, villages ou régions.

Dans le village d'étude tout d'abord, nous n'avons analysé que 10 des 48 variétés recensées (Baco 2003). De plus, rien d'indique que la cohérence entre classification paysanne et génétique mise en évidence dans notre analyse soit valable ailleurs. Nous avons travaillé avec une ethnie à forte tradition de culture de l'igname et dans une région où la production d'igname est très importante. On peut supposer que nos conclusions sur les classifications soient valables chez d'autres ethnies aussi culturellement marquées par l'igname. Au contraire, si nous avions travaillé avec une ethnie sans tradition de l'igname, nous aurions sans doute observé des incohérences entre les classifications génétiques et paysannes.

Ensuite, on ignore quelles sont les concordances entre les classifications de différentes ethnies. En effet, chaque ethnie parle sa propre langue et est susceptible de nommer différemment d'une autre ethnie des variétés identiques génétiquement. A l'inverse des ethnies différentes peuvent nommer de la même façon des individus différents génétiquement (Jarvis et al. 2000). S'il s'avère que différentes ethnies maintiennent la même diversité génétique (même sous des noms variétaux différents), l'échantillonnage pourra se concentrer sur une seule ethnie. Au contraire, si différentes ethnies maintiennent une diversité génétique différente (même sous des noms variétaux identiques), il sera important de représenter la diversité maintenue par chaque ethnie.

Pour résoudre ces questions, il faut envisager de réaliser des études génétiques dans des villages et des ethnies différentes, en se concentrant dans un premier temps sur les ethnies reconnues pour leur tradition de l'igname.

Une solution alternative à la collecte systématique des différentes variétés pour constituer des collections *ex situ* pourrait être de réaliser une collection "virtuelle" (Berthaud com. pers.). En effet, selon Baco (2003), certaines variétés d'ignames sont cultivées par un grand nombre de paysans et en grande quantité. De plus, nous avons montré que ces paysans cultivent les mêmes génotypes sous un même nom de variété. Dans ces conditions, le risque de voir disparaître ces millions de tubercules est bien plus faible que celui de voir disparaître les quelques accessions correspondantes maintenues en collections *ex situ*. Cette collection virtuelle correspondrait à une base de données dans laquelle chaque variété serait référencée ainsi que les ethnies/villages/paysans la cultivant. Les gestionnaires des ressources génétiques auraient ainsi accès à ces variétés en cas de nécessité. Cependant, une telle collection doit être complétée par une collection *ex situ* pour les variétés cultivées par peu de paysans et en faible quantité. Cette collection *ex situ* pourrait aussi servir à redistribuer la variété en cas de perte (Pham et al. 2002). Cette collection virtuelle pourrait aussi permettre aux paysans de savoir où trouver quelle variété et ainsi permettrait de faciliter la diffusion de la diversité entre les communautés.

De telles bases de données ont été réalisées au Népal (Rijal et al. 2000), sous le nom de Community Biodiversity Register. Ces registres de biodiversité sont tenus par les communautés locales elles-mêmes et permettent ainsi de développer une certaine fierté, un sentiment patrimonial, incitant ces communautés locales à conserver leur diversité. Ces bases de données se situent donc à la frontière de la conservation *ex situ* et de la conservation *in situ*.

C. Conservation *in situ*

La conservation *ex situ* des ressources génétiques d'igname est aujourd'hui peu performante (coûts élevés, pertes importantes). Au cours de cette thèse, nous avons montré l'existence en milieu paysan d'une dynamique de création variétale, que nous sommes incapables de reproduire en stations expérimentales. Nous avons aussi montré que les espèces sauvages et cultivées interagissent par l'entremise des paysans et contribuent au maintien d'une dynamique évolutive chez les ignames cultivées. Dans ce contexte, il devient nécessaire de considérer la conservation *in situ* des ressources génétiques d'igname.

Nos résultats révèlent un système complexe où la diversité des ignames sauvages et la diversité des ignames cultivées sont liées et où le paysan est l'élément clé.

D'une part, nous avons montré que, par le biais de l'ennoblissement, les paysans exploitent la diversité des ignames sauvages et contribuent à la diversification du pool cultivé. La conservation des ignames sauvages et des pratiques paysannes associées est donc indispensable pour maintenir les processus évolutifs chez l'igname cultivée.

D'autre part, seule la conservation des milieux naturels permettra la conservation des ignames sauvages. Dans un pays comme le Bénin, il n'est pas raisonnable de prétendre conserver des espaces sauvages en interdisant l'exploitation par les populations locales. Non seulement cela poserait des problèmes vis-à-vis des populations locales qui dépendent de ces espaces naturels, mais en plus de tels programmes nécessiteraient des ressources financières trop importantes pour être viables à long terme (Louafi et Tubiana 2005). Selon ces auteurs, "sans association des populations locales et des usagers et sans prise en compte de leurs intérêts respectifs, la biodiversité a peu de chance d'être conservée efficacement sur le long terme". De plus, selon Kaimowitz (2005), il n'est pas suffisant de conserver les espèces menacées, il faut surtout qu'elles restent disponibles là où les populations en ont besoin. Ceci est d'autant plus vrai dans le cas de l'igname car l'exploitation des ignames sauvages a un impact direct sur la conservation des ignames cultivées. La protection des habitats naturels doit donc s'accompagner d'une exploitation raisonnable des espèces sauvages. De plus, si le paysan perçoit l'intérêt qu'il a à exploiter raisonnablement les milieux naturels (pour le maintien des activités de chasse, cueillette, etc.), il contribuera directement à préserver ces

milieux et donc à préserver la diversité des espèces sauvages associées. Le paysan apparaît donc comme un élément central permettant la conservation des ignames sauvages.

Il ressort donc que la conservation *in situ* à la ferme de l'igname cultivée et la conservation *in situ* des ignames sauvages doivent être considérées en même temps, la réussite de l'une étant dépendante de la réussite de l'autre.

Nos résultats sur la structuration de la diversité génétique dans le village de Gorobani suggèrent que pour conserver efficacement les ressources génétiques cultivées de ce village, il n'est pas utile d'impliquer tous les paysans. En effet, il suffirait de travailler avec quelques paysans motivés cultivant les principales variétés du village, ainsi qu'un maximum de variétés mineures, et pratiquant l'ennoblissement. D'un point de vue génétique, ce n'est donc pas très compliqué à mettre en place. Cela risque cependant d'être bien plus difficile car il faudra prendre en compte des aspects sociaux qui régissent la culture de l'igname et la vie du village en général. La conservation des ressources sauvages devrait, au contraire, impliquer et responsabiliser le plus grand nombre.

Le rôle central des paysans et de leurs savoirs dans la conservation des ressources génétiques est aujourd'hui reconnu (FAO 1996). Pourtant, au Bénin l'érosion culturelle des savoirs paysans ne peut être exclue.

Actuellement l'ennoblissement est pratiqué par moins de 5% des paysans au Bénin (Dumont 1998b, Baco 2000, Okry 2000, Houemassou Bossa 2001) et il semble que cette pratique soit en déclin. En effet, l'ennoblissement est une pratique longue et fastidieuse qui est jugée particulièrement déshonorante dans certaines régions du Bénin. Le problème est donc multiple : l'ennoblissement est une pratique délicate qui nécessite une certaine expérience, cependant les savoirs liés à cette pratique sont peu diffusés et les anciens ont actuellement tendance à abandonner cette pratique tandis que la jeune génération ne s'y intéresse plus. Le risque est donc de voir progressivement disparaître des savoirs irremplaçables. Il semble important aujourd'hui d'essayer de revaloriser cette pratique afin de favoriser dans un premier temps l'échange des savoirs puis la perpétuation de ces savoirs par la jeune génération.

L'étude de Baco (2000) rapporte que les paysans cultivent de plus en plus du maïs ou du coton. Outre le risque d'érosion lié au déclin de la culture de l'igname, ce désintérêt conduit aussi à une moins bonne gestion des variétés d'igname. En effet, Baco (2003) note

que, en raison de leur manque de connaissance et de leur incapacité à différencier les différentes variétés, certains paysans du nord du Bénin donnent une dénomination globale à un ensemble de variétés présentant des caractéristiques voisines. Ils ne sont pas en mesure de différencier chaque variété séparément. Une telle pratique risque d'entraîner une perte de diversité dans ces "ensembles de variétés" par un simple phénomène de dérive. Il est donc important d'essayer de maintenir les savoirs paysans liés à la reconnaissance variétale, et surtout à faire circuler correctement ces savoirs.

La préservation des savoirs paysans est un objectif délicat à réaliser. Un gestionnaire des ressources génétiques ne peut pas en effet exiger d'un paysan qu'il conserve ses pratiques traditionnelles et qu'il les transmette à la jeune génération. Par contre, la valorisation de ces pratiques dans l'esprit des paysans peut contribuer fortement à les maintenir. Nous en avons eu l'exemple avec la pratique de l'ennoblissement dans le village de Gorobani.

Cela fait de nombreuses années déjà que l'IRD et le CIRAD, en collaboration avec des chercheurs de l'Université d'Abomey-Calavi et de l'INRAB, travaillent sur l'ennoblissement. Plusieurs personnes différentes ont ainsi défilé dans le village de Gorobani pour interroger les paysans pratiquant l'ennoblissement et récolter des tubercules pré-ennoblis. Cet intérêt pour la pratique de l'ennoblissement n'a pas échappé aux paysans. Lors de l'enquête de Baco (2000), les paysans avouaient difficilement pratiquer l'ennoblissement et n'acceptaient d'en discuter que loin des autres paysans. En 2004, les paysans pratiquant l'ennoblissement s'étaient regroupés autour d'un "chef", attitude qui semblait impensable quatre ans auparavant. En 2003, nous avons rencontré un paysan qui, découragé par ses mauvais résultats, voulait abandonner l'ennoblissement, au grand désespoir de S. Tostain qui a essayé par tous les moyens de le convaincre de continuer. L'année suivante, ce paysan pratiquait toujours l'ennoblissement et nous a confié que puisque nous travaillions tant sur cette pratique, c'est qu'elle devait être intéressante pour lui et donc qu'il fallait qu'il continue. Il n'est donc pas utopique de prétendre maintenir des savoirs paysans traditionnels.

De façon plus générale, les plans de conservation *in situ* à la ferme cherchent à faire prendre conscience aux paysans de l'intérêt qu'ils ont à maintenir leurs ressources génétiques et à mobiliser les communautés locales. Au Népal, par exemple, des groupes de travail dans les villages, des concours de chants ou de poèmes expliquant la nécessité de conserver la diversité, etc., ont été mis en place pour sensibiliser les populations locales à la conservation (Rijal et al. 2000). La prise de conscience paysanne est indispensable pour espérer maintenir les ressources génétiques mais n'est pas toujours suffisante, surtout lorsque l'intérêt du

paysan s'oppose à la conservation. C'est ainsi que la notion de compensations en échange de la conservation de la diversité a fait son apparition (Kaimowitz 2005). Au Pérou, par exemple, certaines communautés paysannes ont accepté de maintenir des variétés de pomme de terre en échange d'un accès à des semences dont elles manquent (Sanchez et Cosio 2000). En effet, un projet demandant aux paysans de conserver leurs ressources génétiques alors qu'ils y sont perdants n'est pas viable et n'est pas éthiquement envisageable (Kaimowitz 2005). De nombreuses autres approches peuvent ainsi être envisagées comme la rétribution monétaire, l'amélioration des conditions de culture, ou la mise en place de création variétale participative pour améliorer les variétés locales.

Même si de nombreuses questions ne sont pas encore résolues, notre recherche permet de mieux comprendre comment les pratiques paysannes influencent le maintien et la dynamique de la diversité des ignames au Bénin.

De façon générale, cette démarche nous paraît indispensable avant d'encourager les pratiques paysannes que l'on suppose garantes des processus évolutifs. En effet, seule la démonstration de leur impact réel permet d'identifier les bénéfices attendus en matière de conservation, et donc de justifier et éclairer la mise en place de plans de conservation impliquant les communautés paysannes.

REFERENCES

- Abramowitz M & Stegun A (1965) Handbook of mathematical functions. Dover Publications, New York
- Agbahungba G, Sokpon N & Gaoué OG (2001) Situation des ressources génétiques forestières du Bénin. Atelier sous-régional FAO/IPGRI/ICRAF sur la conservation, la gestion, l'utilisation durable et la mise en valeur des ressources génétiques forestières de la zone sahélienne (Ouagadougou, 22-24 sept. 1998). Note thématique sur les ressources génétiques forestières. Document FGR/12F. Département des forêts, FAO, Rome, Italie
- Ake Assi L (1998) Diversification des utilisations des ignames : usage pharmaceutique traditionnel. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p263-268
- Alemayehu F & Parlevliet JE (1997) Variation between and within Ethiopian barley landraces. *Euphytica* 94, 183-189
- Allomasso T (2001) Conservation des ressources génétiques forestières du département de l'Atlantique : Stratégies de conservation de l'igname sauvage *Dioscorea praehensilis* (Benth) dans les forêts sacrées et étude de sa domestication. DESS, Université Nationale du Bénin, Bénin
- Altieri MA & Merrick LC (1987) *In situ* conservation of crop genetic resources through maintenance of traditional farming systems. *Econ. Bot.* 41, 86-96
- Auriau P, Doussinault G, Jahier J, Lecomte C, Pierre J, Pluchard P, Rousset M, Saur L & Trottet M (1992) Le blé tendre. In: Amélioration des espèces végétales cultivées. Eds Gallais A & Bennerot H. INRA éditions. p22-38
- Ayensu ES (1972) Anatomy of the monocotyledons. VI. Dioscoreales. Ed. Metcalfe Oxford. Clarendon Press
- Ayensu ES & Coursey DG (1972) Guinea yams. The botany, ethnobotany, use and possible future of yams in West Africa. *Econ. Bot.* 26, 301-318
- Baco MN (2000) La "domestication" des ignames sauvages dans la sous-préfecture de Sinendé : savoirs locaux et pratiques endogènes d'amélioration génétique des *Dioscorea abyssinica* Hochst. Thèse d'ingénieur, Université Nationale du Bénin, Bénin
- Baco MN (2003) Etude de la faisabilité d'une gestion et d'une conservation *in situ* de l'agrobiodiversité : le modèle igname dans le nord du Bénin. DEA, Université d'Orléans, France
- Baco MN, Tostain S, Mongbo RL, Daïnou O & Agbangla C (2004) Gestion dynamique de la diversité variétale des ignames cultivées (*Dioscorea cayenensis*-*D. rotundata*) dans la commune de Sinendé au nord Bénin. *Plant. Genet. Res. News.* 139, 18-24
- Balloux F & Lugon-Moulin N (2002) The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 11, 155-165
- Balloux F, Lehmann L & de Meeûs T (2003) The population genetics of clonal and partially clonal diploids. *Genetics* 164, 1635-1644
- Barton NH & Charlesworth B (1998) Why sex and recombination? *Science* 281, 1986-1990
- Beaumont MA & Rannala B (2004) The Bayesian revolution in genetics. *Nature reviews Genetics* 5, 251-261

- Bellon MR, Pham JL & Jackson MT (1997) Genetic conservation: a role for rice farmers. In: Plant genetic conservation. Eds Maxted N, Ford-Lloyd BV & Hawkes JG. Chapman & Hall. p263-289
- Bennett MD (2004) Perspectives on polyploidy in plants - ancient and neo. *Biol. J. Linn. Soc.* 82, 411-423
- Berthaud J (1984) Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Thèse de doctorat, Université Paris Sud, France
- Bezançon G (1993) Le riz cultivé d'origine africaine *Oriza glaberrima* Steud. et les formes sauvages et adventices apparentées : diversité, relations génétiques et domestication. Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud, France
- Birky CW (1996) Heterozygosity, heteromorphy, and phylogenetic trees in asexual eukaryotes. *Genetics* 144, 427-437
- Birmeta G, Nydom H & Bekele E (2002) RAPD analysis of genetic diversity among clones of the Ethiopian crop plant *Ensete ventricosum*. *Euphytica* 124, 315-325
- Bonin A, Bellemain E, Bronken Eidesen P, Pompanon F, Brochmann C & Taberlet P (2004) How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Mol. Ecol.* 13, 3261-3273
- Bricas N & Attaie H (1998) La consommation alimentaire des ignames. Synthèse des connaissances et enjeux pour la recherche. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p21-30
- Brush S, Kesseli R, Ortega R, Cisneros P, Zimmerer K & Quiros C (1995) Potato diversity in the Andean center of crop domestication. *Conservation Biology* 9, 1189-1198
- Burkill LH (1921) The correct botanical names for white and yellow Guinea yams. *Gdn's Bull. Straits Settl.* 12, 438-441
- Burkill LH (1939) Notes on the genus *Dioscorea* in the Belgian Congo. *Bull. Jard. Bot. Etat Bru.* 15, 345-392
- Burkill LH (1960) The organography and the evolution of the *Dioscoreaceae*, the family of the yams. *J. Linn. Soc. Bot.* 56, 319-412
- Cavalli-Sforza LL & Edwards AWF (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Genet.* 19, 233-257
- Chakraborty R & Jin L (1993) A unified approach to study hypervariable polymorphisms: statistical considerations of determining relatedness and population distances. In: DNA Fingerprinting: State of the Science. Eds Pena SDJ, Chakraborty R, Epplen JT & Jeffreys A. Birkhauser Verlag. p153-175
- Chevalier A (1936) Contribution à l'étude de quelques espèces africaines du genre *Dioscorea*. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.* 8, 520-551
- Chikwendu VE & Okezie CEA (1989) Factors responsible for the ennoblement of African yams: inferences from experiments in yam domestication. In: Foraging and farming the evolution of plant exploitation. Results of a symposium held at the World Archaeological Congress, Southampton, September 1989. Eds. Harris DR & Hillman GC. Academic Division of Unwin Hyman Ltd, London. p344-357
- Collomb P (1999) Une voie étroite pour la sécurité alimentaire d'ici à 2050. Paris, Economica

- Cornuet JM, Piry S, Luikart G, Estoup A & Solignac M (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origin of individuals. *Genetics* 153, 1989-2000
- Coursey DG (1976) The origins and domestication of yams in Africa. In: *Origins of African domestication*. Ed Harlan JR. Mouton Publisher. p383-408
- Couturon E, Mariac C, Bezançon G, Lauga J & Renno JF (2003) Impact of natural and human selection on the frequency of the F1 hybrid between cultivated and wild pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.). *Euphytica* 133, 329-337
- Crow JF (1970) Genetic loads and the cost of natural selection. In: *Mathematical Topics in Population Genetics*. Ed Kojima KI. Springer-Verlag. p128-177
- Daïnou O, Agbangla C, Berthaud J & Tostain S (2002) Le nombre chromosomique de base des espèces de *Dioscorea* constituant la section *Enantiophyllum* pourrait être égal à $x=20$. Quelques preuves. *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin* 3, 21-43
- Dakir EH, Ruiz ML, Garcia P & Perez de la Vega M (2002) Genetic variability evaluation in a Moroccan collection of barley, *Hordeum vulgare* L., by means of storage proteins and RAPDs. *Genet. Res. Crop Evol.* 49, 619-631
- Dansi A, Mignouna HD, Zoundjihèkpon J, Sangare A, Asiedu R & Quin FM (1999) Morphological diversity, cultivar groups and possible descent in the cultivated yams (*Dioscorea cayenensis*/*D. rotundata*) complex in Benin Republic. *Genet. Res. Crop Evol.* 46, 371-388
- Dansi A, Mignouna HD, Zoundjihèkpon J, Sangare A, Ahoussou N & Asiedu R (2000a) Identification of some Benin Republic's Guinea yam (*Dioscorea cayenensis*/*Dioscorea rotundata* complex) cultivars using Randomly Amplified Polymorphic DNA. *Genet. Res. Crop. Evol.* 47, 619-625
- Dansi A, Mignouna HD, Zoundjihèkpon J, Sangare A, Asiedu R & Ahoussou N (2000b) Using isozyme polymorphism to assess genetic variation within cultivated yams (*Dioscorea cayenensis*/*Dioscorea rotundata* complex) of the Republic of Benin. *Genet. Res. Crop. Evol.* 47, 371-383
- Dansi A, Pillay M, Mignouna HD, Daïnou O, Mondeil F & Moutairou K (2000c) Ploidy level of the cultivated yams (*Dioscorea cayenensis*/*D. rotundata* complex) from Benin republic as determined by chromosome counting and flow cytometry. *African Crop Science Journal* 8, 355-364
- Dansi A, Mignouna HD, Pillay M & Zok S (2001) Ploidy variation in the cultivated yams (*Dioscorea cayenensis*-*Dioscorea rotundata* complex) from Cameroon as determined by flow cytometry. *Euphytica* 119, 301-307
- Djedatin GL (2005) Différence génétique entre les ignames sauvages domesticables et non-domesticables du Bénin. DEA, Université de Lomé, Togo
- Doebley J, Goodman MM & Stuber CW (1987) Patterns of isozyme variation between maize and Mexican annual teosinte. *Econ. Bot.* 41, 234-246
- Dounias E (1996) Sauvage ou cultivé ? La paraculture des ignames sauvages par les Pygmées Baka du Cameroun. In: *L'alimentation en forêt tropicale : interactions bioculturelles et perspectives de développement*. Eds Hladik CM, Hladik A, Pagezy H, Linares OF, Kopper GJA & Froment A. Edition UNESCO, Paris. p939-960

- Dumont R (1977) Etude morpho-botanique des ignames *Dioscorea rotundata* et *Dioscorea cayenensis* cultivées au Nord-Bénin. *Agronomie Tropicale* 32, 2252-241
- Dumont R (1998a) L'igname dans l'agriculture traditionnelle ouest-africaine. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p71-76
- Dumont R (1998b) Domestication des ignames en Afrique. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p119-125
- Dumont R & Vernier P (2000) Domestication of yams (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) within the Bariba ethnic group in Benin. *Outlook on Agriculture* 29, 137-142
- Egesi CN, Pillay M, Asiedu R & Egunjobi JK (2002) Ploidy analysis in water yam, *Dioscorea alata* L. germplasm. *Euphytica* 128, 225-230
- Elias M (2000) Sélection naturelle, sélection humaine, et diversité chez une plante domestiquée propagée de façon végétative : le cas de la culture du manioc par les Indiens Makushi du Guyana. Thèse de doctorat, Université Montpellier II, France
- Elias M & McKey D (2000) The unmanaged reproductive ecology of domesticated plants in traditional agroecosystems: An example involving cassava and a call for data. *Acta Oecologica* 21, 223-230
- Elias M, Panaud O & Robert T (2000) Assessment of genetic variability in a traditional cassava (*Manihot esculenta* Crantz) farming system, using AFLP markers. *Heredity* 85, 219-230
- Empereire L, Pinton F & Second G (1998) Gestion dynamique de la diversité variétale du manioc en Amazonie du Nord-Ouest. *Nature Science Société* 6, 27-42
- Estoup A, Jarne P & Cornuet JM (2002) Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetic analysis. *Mol. Ecol.* 11, 1591-1604
- Ewens WJ (1972) The sampling theory of selectively neutral alleles. *Theor. Popul. Biol.* 3, 97-112
- Ewens WJ (2004) *Mathematical population genetics: I. Theoretical introduction*. Springer-Verlag New York
- FAO (1996) *Global Plan of Action for the conservation and sustainable utilization of plant genetic resources for food and agriculture*. FAO, Rome, Italy
- FAOSTAT (2005) www.faostat.fao.org
- Feldman M, Liu B, Segal G, Abbo S, Levy AA & Vega JM (1997) Rapid elimination of low-copy DNA sequences in polyploid wheat: a possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes. *Genetics* 147, 1381-1387
- Felsenstein J (2005) *PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6*. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle
- Gallais A (1989) *Théorie de la sélection en amélioration des plantes*. Masson
- Gamiette F, Bakry F & Ano G (1999) Ploidy determination of some yam species (*Dioscorea* spp.) by flow cytometry and conventional chromosomes counting. *Genet. Res. Crop Evol.* 46, 19-27
- Gaut BS & Doebley JF (1997) DNA sequence evidence for the segmental allotetraploid origin of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 6809-6814

- Gerber S, Chabrier P & Kremer A (2003) FAMOZ: a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers. *Mol. Ecol. Notes* 3, 479-481
- Goldstein DB, Linares AR, Cavalli-Sforza LL & Feldman MW (1995) Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 6723-6727
- Goudet J (2002) FSTAT version 2.3.9.2
- Gouyon PH, Henry JP & Arnould J (1997) Les avatars du gène. La théorie néodarwinienne de l'évolution. Editions Belin
- Green RF & Noakes DLG (1995) Is a little bit of sex as good as a lot? *J. Theor. Biol.* 174, 87-96
- Guengant JP & Banoin M (2004) Introduction : mil, démographie et sécurité alimentaire. In: Ressources génétiques des mils en Afrique de l'Ouest. Diversité, conservation et valorisation. Eds Bezançon G & Pham JL. IRD éditions. p15-30
- Hahn SK, Osiru DSO, Akoroda MO & Otoo JA (1987) Yam production and its future prospects. *Outlook on Agriculture* 16, 105-110
- Hahn SK (1995) Yam *Dioscorea* spp. (*Dioscoreaceae*). In: Evolution of Crop plants. Ed. Simmonds NW. Longmans, London, p112-119
- Hamon P, Hamon S & Touré B (1986) Les ignames cultivées du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata* de Côte d'Ivoire. Inventaire des "cultivars" traditionnels. IBPGR/FAO. Rome, Italie
- Hamon P (1987) Structure, origine génétique des ignames cultivées du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata* et domestication des ignames en Afrique de l'Ouest. Thèse de doctorat, Université Paris XI, France
- Hamon P, Brizard JP, Zoundjihèkpon J, Duperray C & Borgel A (1992a) Etude des index d'ADN de huit espèces d'ignames (*Dioscorea* sp.) par cytométrie en flux. *Can. J. Bot.* 70, 996-1000
- Hamon P, Zoundjihèkpon J, Dumont R, Tio-Touré B (1992b) La domestication de l'igname (*Dioscorea* sp.) : Conséquences pour la conservation des ressources génétiques. In: Complexe d'espèces, flux de gènes et ressources génétiques des plantes. Colloque international en hommage à Jean Pernès, professeur à l'université d'Orsay. BRG. p175-184
- Hamon P, Dumont R, Zoundjihèkpon J, Tio-Touré B & Hamon S (1995) Les ignames sauvages d'Afrique de l'Ouest. Editions ORSTOM, Paris
- Hamon P, Dumont R, Zoundjihèkpon J, N'goran & Tio-Touré B (1997) Les ignames. In: L'amélioration des plantes tropicales. Eds Charrier A, Jacqot M, Hamon S & Nicolas D. CIRAD-ORSTOM, Paris. p385-400
- Harlan JR (1975) Crops and man. American Society of Agronomy & Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin
- Helentjaris T, Weber D & Wright S (1988) Identification of the genomic locations of duplicate nucleotide sequences in maize by analysis of restriction fragment length polymorphisms. *Genetics* 118, 353-363
- Houemassou Bossa J (2001) Gestion de la diversité variétale au sein du complexe *Dioscorea cayenensis-D. rotundata* et la domestication de *D. praehensilis*: savoirs locaux et

- pratiques endogènes dans la sous-préfecture de Djidja. Thèse d'ingénieur, Université d'Abomey-Calavi, Bénin
- Huang QY, Xu FH, Shen H, Deng HY, Liu YJ, Liu YZ, Li JL, Recker RR, & Deng HW (2002) Mutation patterns at dinucleotide microsatellite loci in humans. *Am. J. Hum. Genet.* 70, 625–634
- Hurst LD & Peck JR (1996) Recent advances in understanding of the evolution and maintenance of sex. *Trends Ecol. Evol.* 11, 46-52
- Ilic K, SanMiguel PJ & Bennetzen JL (2003) A complex history of rearrangement in an orthologous region of the maize, sorghum, and rice genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 12265-12270
- Jarne P & Lagoda PJJ (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11, 424-429
- Jarvis DI & Hodgkin T (1999) Wild relatives and crop cultivars: detecting natural introgression and farmer selection of new genetic combinations in agroecosystems. *Mol. Ecol.* 8, S159-S173
- Jarvis DI, Myer L, Klemick H, Guarino L, Smale M, Brown AHD, Sadiki M, Sthapit B & Hodgkin T (2000) A training guide for *in situ* conservation on-farm. Version 1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy
- Johns T & Keen SL (1986) Ongoing evolution of the potato on the Altiplano of Western Bolivia. *Econ. Bot.* 40, 409-424
- Kaimowitz D (2005) Au service des plus pauvres. *Courrier de la Planète* 75, 16-18
- Kawano K, Amaya A, Daza P & Rios M (1978) Factors affecting efficiency of hybridization and selection in cassava. *Crop Science* 18, 373-376
- Lagercrantz U & Lydiate DJ (1996) Comparative genome mapping in *Brassica*. *Genetics* 144, 1903-1910
- Lakhanpaul S, Velayudhan KC & Bhat KV (2003) Analysis of genetic diversity in Indian taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Genet. Res. Crop Evol.* 50, 603-609
- Liu K & Muse S POWERMARKER: new genetic data analysis software. Version 3.0. Free program distributed by the author over the internet from <http://www.powermarker.net>
- Louafi S & Tubiana L (2005) Conservation et développement. *Courrier de la Planète* 75, 4-7
- Louette D (1994) Gestion traditionnelle des variétés de maïs dans la Réserve de la Biosphère Sierra de Manantlán (RBSM, états de Jalisco et Colima, Mexique) et conservation des ressources génétiques de plantes cultivées. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, France
- Malapa R (2005) Description de la diversité de *Dioscorea alata* L. au Vanouatou à l'aide de marqueurs agromorphologiques et moléculaires (AFLP). Relations avec les autres espèces de la section Enantiophyllum. Thèse de doctorat, Ecole Nationale de Renne, France
- Malaurie B, Pungu O, Dumont R & Trouslot MF (1993) The creation of an *in vitro* germplasm collection of yam (*Dioscorea* spp.) for genetic resources preservation. *Euphytica* 65, 113-122

- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB & Pemberton M (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7, 639-655
- Maynard Smith J (1971) What use is sex? *J. Theor. Biol.* 30, 319-335
- Miège J (1952) Contribution à l'étude systématique des *Dioscorea* ouest africains. Thèse de doctorat, Université de Paris, France
- Miège J (1954) Nombres chromosomiques et répartition géographique de quelques plantes tropicales et équatoriales. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* 15, 312-348
- Miège J & Lyonga SN (1982) Yams/Ignames. Compte rendu de la conférence internationale sur l'igname, International Foundation for Science (IFS), Buéa, Cameroun, 1978. Clarenton Press
- Miezan K & Ghesquière A (1986) Genetic structure of African traditional rice cultivars. In: Rice genetics. Proc. Rice Genetics Symposium, IRRI, Los Banos, Philippines. p 91-107
- Mignouna HD, Mank RA, Ellis THN, van den Bosch N, Asiedu R, Ng SYC & Peleman J (2002) A genetic linkage map of Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) based on AFLP markers. *Thero. Appl. Genet.* 105, 716-725
- Mignouna HD, Abang MM & Fagbemi SA (2003) A comparative assessment of molecular marker assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterisation. *Ann. Appl. Biol.* 142, 269-276
- Mignouna HD & Dansi A (2003) Yam (*Dioscorea* ssp.) domestication by the Nago and Fon ethnic groups in Benin. *Genet. Res. Crop Evol.* 50, 519-528
- Muller HJ (1932) Some genetic aspects of sex. *Am. Nat.* 66, 118-138
- Muller HJ (1964) The relation of recombination to mutational advance. *Mutat. Res.* 1, 2-9
- Nei M (1977) F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Hum. Genet.* 41, 225-233
- Okry F (2000) L'igname dans le système de production agricole de Banté et la domestication de quelques unes de ses formes sauvages : savoirs locaux et pratiques endogènes de culture et d'amélioration génétique. Thèse d'ingénieur, Université Nationale du Bénin, Bénin
- Paetkau D, Calvert W, Stirling I & Strobeck C (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.* 4, 347-354
- Peck JR & Waxman D (2000) What's wrong with a little sex? *J. Evol. Biol.* 13, 63-69
- Pham JL, Morin SR, Sebastian LS, Abrigo GA, Calibo MA, Quilloy SM, Hipolito L & Jackson MT (2002) Rice, farmers and genebanks: a case study in the Cagayan Valley, Philippines. In: Managing plant genetic diversity. Eds Engels JMM, Ramanatha Rao V, Brown AHD & Jackson MT. CABI publishing. p149-160
- Perrier X, Flori A & Bonnot F (1999) Les méthodes d'analyse des données. In: Diversité génétique des plantes tropicales cultivées. Eds Hamon P, Seguin M, Perrier X & Glaszmann JC. CIRAD édition Repères, p43-76
- Perrot CH (1998) L'igname dans les cérémonies politico-religieuses de l'aire culturelle Akan. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p47-50

- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L & Estoup A (2004) GENECLASS2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *J. Heredity* 95, 536-539
- Portères R (1957) Compagnonnage agraire et génétique biogéographique chez les riz cultivés. *C. R. Soc. Biogéogr.* 298, 68-99
- Pressoir G & Berthaud J (2004a) Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity* 92, 88-94
- Pressoir G & Berthaud J (2004b) Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92, 95-101
- Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959
- Pritchard JK & Wen W (2003) Documentation for STRUCTURE software: Version 2.
- Pujol B, David P & McKey D (2005) Microevolution in agricultural environments: how a traditional Amerindian farming practice favours heterozygosity in cassava (*Manihot esculenta* Crantz, *Euphorbiaceae*). *Ecology Letters* 8, 138-147
- Quiros CF, Ortega R, van Raamsdonk L, Herrera-Montoya M, Cisneros P, Schmidt E & Brush SB (1992) Increase of potato genetic resources in their center of biodiversity: the role of natural outcrossing and selection by the Andean farmer. *Genet. Res. Crop Evol.* 39, 107-113
- Rannala B & Mountain JL (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 9197-9201
- Raymond M & Rousset F (1995) GENEPOP (version 1,2): population genetics software for exact tests and eucumenicism. *J. Heredity* 86, 248-249
- Rijal DK, Sthapit BR, Rana RB, Tiwari PR, Chaudhary P, Pandey YR, Paudel CL & Subedi A (2000) Nepal. In: *Conserving agricultural biodiversity in situ: A scientific basis for sustainable agriculture*. Eds Jarvis D, Sthapit B & Sears L. IPGRI. p202-205
- Robert T, Luxereau A, Mariac C, Allinne C, Amoukou AI, Bani J, Banoin M, Beidari Y, Bezançon G, Cayeux S, Couturon E, Dedieu V, Gamatché I, Hamidou A, Kairou A, Moussa D, Sadou M, Seydou M, Seyni O, Tidjani M & Sarr A (2004) Influence des facteurs anthropiques et des flux de gènes sur la variabilité génétique des formes cultivées et spontanées du mil dans deux localités du Niger. In: *Ressources génétiques des mils en Afrique de l'Ouest. Diversité, conservation et valorisation*. Eds Bezançon G & Pham JL. IRD éditions. p123-149
- Rousset F (2000) Structuration génétique : quelques idées utiles et leur application aux microsatellites. *Ecole thématique ADN microsatellites*
- Sadik S & Okereke OU (1975a) A new approach to improvement of yam *Dioscorea rotundata*. *Nature* 254, 134-135
- Sadik S & Okereke OU (1975b) Flowering, pollen grain germination, fruiting, seed germination and seedling development of white yam, *Dioscorea rotundata* Poir. *Ann. Bot.* 39, 597-604
- Sadik S (1977) A review of sexual propagation for yam improvement. In: *4th Symposium ISTRC, Cali, Colombia*. p40-44

- Saitou N & Nei M (1987) The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425
- Sanchez I & Cosio P (2000) Experience with support to the community potato conservation system in Cusco, Peru. In: Encouraging diversity. The conservation and development of plant genetic resources. Eds Almekinders C & de Boef W. Intermediate Technology Publications. p237-240
- Schlötterer C, Ritter R, Harr B & Brem G (1998) High mutation rate of a long microsatellite allele in *Drosophila melanogaster* provides evidence for allele-specific mutation rates. *Mol. Biol. Evol.* 15, 1269-1274
- Schneider S, Roessli D & Excoffier L (2000) ARLEQUIN ver. 2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland
- Schoen DJ & Brown AHD (1991) Intraspecific variation in population gene diversity and effective population size correlates with the mating system in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 4494-4497
- Segnou, Fatokun CA, Akoroda MO & Hahn SK (1992) Studies on the reproductive biology of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). *Euphytica* 64, 197-203
- Seignobos C (1992) L'igname dans les monts Mandara (Nord-Cameroun). *Genève Afrique* 30, 78-96
- Seignobos C (1998) Evolution d'un agrosystème à ignames : l'exemple des Dourou du Nord-Cameroun. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p51-57
- Shoemaker RC, Polzin K, Labate J, Specht J, Brummer EC, Olson T, Young N, Concibido V, Wilcox J, Tamulonis JP, Kochert G, & Boerma HR (1996) Genome Duplication in Soybean (*Glycine* subgenus *soja*). *Genetics* 144, 329-338
- Shoemaker JS, Painter IS & Weir BS (1999) Bayesian statistics in genetics, a guide for the uninitiated. *Trends Genet.* 15, 354-358
- Slatkin M (1982) Testing neutrality in subdivided populations. *Genetics* 100, 533-645
- Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139, 457-462
- Song K, Lu P, Tang K & Osborn AC (1995) Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 7719-7723
- StatSoft Inc. (2001) Statistica (data analysis software system) version 6. www.statsoft.com
- Sultan SE (2003) Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. *Evolution and development* 5, 25-33
- Terauchi R, Chikaleke VA, Thottappilly G & Hahn SK (1992) Origin and phylogeny of Guinea yams as revealed by RFLP analysis of chloroplast DNA and nuclear ribosomal DNA. *Theor. Appl. Genet.* 83, 743-751
- Tessier C, David J, This P, Boursiquot JM & Charrier A (1999) Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.* 98, 171-177

- The *Arabidopsis* Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408, 796-815
- Thuillet AC, Bru D, David J, Roumet P, Santoni S, Sourdille P & Bataillon T (2002) Direct estimation of mutation rate for 10 microsatellite loci in durum wheat, *Triticum turgidum* (L.) Thell. ssp *durum* desf. *Mol. Biol. Evol.* 19, 122-125
- Tostain S & Daïnou O (1998) Bilan de plusieurs collectes de *Dioscorea abyssinica* et de *D. praehensilis* du Bénin et du Cameroun (1996-1997). In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p257-258
- Tostain S, Agbangla C & Daïnou O (2002) Les ignames *Dioscorea abyssinica* et *D. praehensilis* en Afrique de l'Ouest. Diversité génétique estimée par des marqueurs AFLP. *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin* 3, 1-20
- Tostain S, Agbangla C, Baco MN, Okry FK & Daïnou O (2003a) Etude des relations entre ignames sauvages et ignames cultivées (*Dioscorea* sp.) dans deux sous-préfectures du Bénin à l'aide de marqueurs AFLP. *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin* 4, 1-22
- Tostain S, Okry FK, Baco NM, Mongbo RL, Agbangla C & Daïnou O (2003b) La "domestication" des ignames *Dioscorea abyssinica* dans les sous-préfectures de Sinendé et de Banté au Bénin (Afrique de l'Ouest). *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin* 4, 33-54
- Tostain S, Scarcelli N, Brottier P, Marchand JL, Pham JL & Noyer JL (2005) Development of DNA microsatellite markers in tropical yam (*Dioscorea* sp.). *Mol. Ecol. Notes* sous presse
- Tostain S, Agbangla C, Scarcelli N, Noyer JL, Daïnou O, Berthaud J & Pham JL (en préparation) Fingerprinting and genetic diversity analysis of Guinea yam cultivars (*Dioscorea rotundata* Poir.) in Benin using SSR markers
- Treche S (1998) Valeur nutritionnelle des ignames. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p305-331
- Urbino C, Bousalem M, Pinel A, Fargette D & Dubern J (1998) Les virus de l'igname : caractérisation immunologique et moléculaire du virus de la mosaïque de l'igname. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p205-211
- van Valen L (1973) A new evolutionary law. *Evol. Theory* 1, 1-30
- Vernier P (1998) L'intensification des techniques de culture de l'igname. Acquis et Contraintes. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p93-101
- Vernier P, Orkwor GC & Dossou AR (2003) Studies on yam domestication and farmers' practices in Benin and Nigeria. *Outlook on Agriculture* 32, 35-41
- Via S, Gomulkiewicz R, de Jong G, Scheiner SM, Schlichting CD & van Tienderen PH (1995) Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends Ecol. Evol.* 10, 212-217
- Vigouroux Y, Jaqueth JS, Matsuoka Y, Smith OS, Beavis WD, Smith JSC & Doebley J (2002) Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in Maize. *Mol. Biol. Evol.* 19, 1251-1260
- Watterson GA (1978) The homozygosity test of neutrality. *Genetics* 88, 405-417

- Weir BS & Cockerham C (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358-1370
- Weir BS (1996) Genetic data analysis II. Sinauer Associates
- Wendel JF (2000) Genome evolution in polyploids. *Plant Mol. Biol.* 42, 225-249
- Wilkes HG (1977) Hybridization of maize and teosinte, in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. *Econ. Bot.* 31, 254-293
- Williams GC (1975) Sex and evolution. Princeton University Press
- Wolffe AP & Matzke MA (1999) Epigenetics: regulation through repression. *Science* 286, 481-486
- Wood D & Lenné JM (1997) The conservation of agrobiodiversity on-farm: questioning the emerging paradigm. *Biodiversity and Conservation* 6, 109-129
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15, 323-354
- Zhang D, Ghislain M, Huaman Z, Golmirzaie A & Hijmans R (1998) RAPD variation in sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) cultivars from South America and Papua New Guinea. *Genet. Res. Crop Evol.* 45, 271-277
- Zinzou C (1998) Physiologie et morphogénèse de l'igname (*Dioscorea* spp.). In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p213-222
- Zohary D (1984) Modes of evolution in plants under domestication. In: Plant biosystematics. Ed Grant WF. Academic Press. p579-586
- Zoundjihèkpon J, Essad S & Touré B (1990) Dénombrement chromosomique dans dix groupes variétaux du complexe *Dioscorea cayenensis-rotundata*. *Cytologia* 55, 115-120
- Zoundjihèkpon J (1993) Biologie de la reproduction et génétique des ignames cultivées de l'Afrique de l'Ouest, *Dioscorea cayenensis-rotundata*. Thèse de doctorat, Université Nationale de Côte d'Ivoire, Côte d'Ivoire
- Zoundjihèkpon J, Hamon S, Tio-Touré B & Hamon P (1994) First controlled progenies checked by isozymic markers in cultivated yams *Dioscorea cayenensis-rotundata*. *Theor. Appl. Genet.* 88, 1011-1016
- Zoundjihèkpon J, Hamon P, Noirot M, Tio-Touré B & Hamon S (1997) Flowering synchronisation between male and female West African cultivated yams (*Dioscorea cayenensis-rotundata* complex). *Euphytica* 95, 371-375
- Zoundjihèkpon J & Dansi A (1998) Biologie de la reproduction des ignames africaines. In: L'igname, plante séculaire et culture d'avenir. Eds Berthaud J, Bricas N & Marchand JL. CIRAD. p231-240

ANNEXE

Development of DNA microsatellite markers in tropical yam (*Dioscorea* sp.)

Serge TOSTAIN, Nora SCARCELLI, Philippe BROTTIER, Jean-Leu MARCHAND,
Jean-Louis PHAM et Jean-Louis NOYER

Accepté dans Molecular Ecology Notes

PRIMER NOTE

Development of DNA microsatellite markers in tropical yam (*Dioscorea* sp.)

S. TOSTAIN,* N. SCARCELLI,* P. BROTTIER,† J.-L. MARCHAND,† J.-L. PHAM* and J.-L. NOYER†

*Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UMR 1097 DGPC, Equipe DYNADIV BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5, France, †Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR 1096 PIA, 34398 Montpellier cedex 5, France, ‡Genoscope, Centre National de Séquençage, CP 5706, 91057 Evry, France

Abstract

We developed new simple sequence repeat (SSR) markers in different species of yam (*Dioscorea* sp.). A microsatellite-enriched bank was created from *Dioscorea alata*, *Dioscorea abyssinica* and *Dioscorea praehensilis*. Sixteen polymorphic loci were characterized. Several of these markers are transferable to species of other *Dioscorea* sections.

Keywords: *Dioscorea*, SSR, transferability, tuber crop, yam

Received 14 July 2005; revision accepted 1 September 2005

Yam, *Dioscorea* sp. (Dioscoreaceae, monocotyledon), is a dioecious climber that is commonly found in tropical zones of Asia, Africa and America. Cultivated yam tubers provide a significant source of starch to enhance people's diet during the dry season. Only three of the 400 yam species distributed worldwide are of economic importance: *Dioscorea alata* L. (South-East Asia and Oceania), *Dioscorea rotundata* Poir. (Africa) and *Dioscorea trifida* L. (South America). Cultivated species are vegetatively propagated by farmers. Codominant molecular markers are necessary: (i) to study relationships between the African cultivated species *D. rotundata* and its assumed ancestors *Dioscorea praehensilis* and *Dioscorea abyssinica*, (ii) to study relationships between the cultivated species *D. alata* and the related species *Dioscorea nummularia* from South-East Asia and Oceania, and (iii) to genetically identify the cultivars in the three diversification areas. A few microsatellite markers have been characterized by several authors, [i.e. six in *D. tokoro* (Terauchi & Konuma 1994) and nine in *D. rotundata* (Mignouna *et al.* 2003)]. In this paper, we describe additional microsatellite loci that were developed to fulfill the above-described objectives.

Total genomic DNA was extracted according to Risterucci *et al.* (2000) from young leaves of accessions of three species: *D. alata* (one accession from Vanuatu), *D. praehensilis* and *D. abyssinica* (two accessions from Benin). DNA was digested with *RsaI* restriction enzyme and the fragments were screened using the enrichment protocol described by Billote *et al.*

(1999). Fragments containing microsatellite (AG)₁₅ or (AC)₁₅ were selected with a biotin-labelled oligonucleotide. Fragments were captured on streptavidin-coated magnetic beads (antigen-antibody/biotin-streptavidin complex). After bacterial transformation, the 1128 transformed clones were subcultured and the inserts were amplified after polymerase chain reaction (PCR) directly from the bacteria. Fragments were hybridized with ³²P-labelled sequences complementary to the microsatellites (CT)₁₅ and (GT)₁₅. Two hundred microsatellites were revealed by radiography: 100 with *D. alata*, 50 with *D. praehensilis* and 50 with *D. abyssinica*.

Sequencing was performed by the Centre National de Séquençage (http://www.genoscope.cns.fr/externe/English/Projets/Projet_DW/DW.html) in 2001. Forward and reverse primers for each locus were designed using the web-based PRIMER 3 software program (http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html). Fifty primer pairs were synthesized, and 48 had amplified fragments of expected size. Sixteen were retained (Table 1) for their ability to strongly amplify bands with few slippage signals or secondary bands.

Microsatellites were highlighted by radioactive labelling of the primers before PCR (phosphorylation of ATP-labelled gamma ³³P in the presence of T4 polynucleotide kinase). PCRs were performed using a PTC 100™ thermocycler (MJ Research). The PCR program involved denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles at 94 °C for 30 s, 51 °C (annealing temperature) for 1 min and 72 °C for 1 min, with a final extension step at 72 °C for 8 min. The PCR products were separated on denaturing urea-PAGE

Correspondence: S. Tostain, Fax: 33 (0)4 67 41 62 22; E-mail: tostain@mpl.ird.fr

2 PRIMER NOTE

Table 1 Results of cross species amplification with eight *Dioscorea* species

Sections	Enantiophyllum							Opsophyton	Macrogy- nodium	Transferability of SSR marker loci (%)
	<i>D. abyssinica</i> (3)	<i>D. rotundata</i> (3)	<i>D. praehensilis</i> (2)	<i>D. cayenensis</i> (1)	<i>D. alata</i> (4)	<i>D. nummularia</i> (2)	<i>D. bulbifera</i> (1)	<i>D. trifida</i> (6)		
Da1A01	+	+	+	+	+	+	+	+	100	
Da1C12	+	+	+	+	+	+	+	-	88	
Da1D08	+	+	+	+	+	+	-	-	75	
Da1F08	+	+	+	+	+	+	+	+	100	
Da3G04	+	+	+	+	*	*	*	*	100	
Dab2C05	+	+	+	+	+	+	+	+	100	
Dab2C12	+	+	+	+	+	+	+	-	88	
Dab2D06	+	+	+	+	-	*	*	+	83	
Dab2D08	+	+	+	+	+	+	+	-	88	
Dab2E07	+	+	+	+	+	+	+	+	100	
Dab2E09	+	+	+	+	-	+	-	-	63	
Dpr3B12	+	+	+	+	+	+	-	-	75	
Dpr3D06	+	+	+	+	+	+	+	+	100	
Dpr3F04	+	+	+	+	+	+	+	+	100	
Dpr3F10	+	+	+	+	-	-	-	-	50	
Dpr3F12	+	+	+	+	+	+	+	+	50	

The number of tested individuals per species is given in parentheses.

+, successful amplification with one or more bands of a size similar to that of the original sequenced clone; -, no amplification; *, no data.

[urea 5M; 5% polyacrylamide gel, (Eurobio)] and revealed on radiography film (Kodak X-OMAT LS).

Forward and reverse primer sequences defined by Mignouna *et al.* (2003) were compared with sequences of our clones using the BLAST program of the National Center for Biotechnology Information (NCBI). No significant similarity was found.

The primers were tested for microsatellite amplification on 22 DNA samples from eight *Dioscorea* species (Table 1). Results concerning the transferability of the simple sequence repeat (SSR) across different *Dioscorea* species were consistent with the botanical taxonomy (Table 1). Transferability was higher for species belonging to the same botanical section (Enantiophyllum) as species from which SSR primers were developed. Within the Enantiophyllum section, the patterns differed for the African species on one hand and the Asian-Oceanian species *D. alata* and *D. nummularia* on the other.

Samples were analysed on an ABI PRISM® 3100 capillary electrophoresis apparatus (PerkinElmer), and loci were scored using GENESCAN 3.7 and GENOTYPER 3.6 software (Applied Biosystems). The PCR products were labelled with four fluorochromes (PET, 6-FAM, NED and VIC) and denatured with formamide.

Diversity at 10 microsatellite loci was monitored on 146 *D. rotundata* accessions from Benin and at six microsatellite loci on 56 others (Table 2). Heterozygosity and allele

numbers were computed using POWERMARKER (Liu 2002). Fixation index (F_{IS}) values were computed and tested using FSTAT software (Goudet 2001). The total number of alleles amplified for the 16 SSRs was 117, with an average of 7.3 alleles per locus. Observed heterozygosity values were variable, with an average of 0.59 (0.00–0.94). No samples displayed more than two alleles per locus, which is consistent with the diploidy of *D. rotundata* (Scarcelli *et al.* 2005).

F_{IS} analysis showed a significant excess of heterozygotes at nine of the 15 polymorphic loci. This was expected in this vegetatively propagated crop. The significant excess of homozygotes estimated at loci Da3G04 and Dpr3B12 could be explained by the presence of null alleles.

Pairwise linkage disequilibrium (LD) between 10 loci was studied using the GENETIX software package (Belkhir *et al.* 2004) on the basis of genotype data from 103 *D. rotundata* cultivars from Benin. Significant LD ($P < 0.05$) was detected in 38 out of the 45 pairs of loci. Six of the non-significant LD cases involved locus Da1C12 (with loci Dab2E07 and Dpr3B12). The latter case involved the pair of loci Dpr3F04 and Da1A01. LD is thus likely frequent in autogamous and asexual species, even in the absence of genetic linkage between loci. Linkage data are available for only five of the 10 surveyed loci. Among Dab2D08, Dab2D06, Dpr3F10, Dpr3F04 and Dpr3F12, only the last two loci were found to be genetically linked in a segregation study (Scarcelli *et al.* 2005).

Table 2 Characteristics of 16 microsatellite loci isolated from *D. alata* (Da), *D. abyssinica* (Dab) and *D. praehensilis* (Dpr). The annealing temperature for all primer sets was 51 °C

Locus	Origin	Primer sequences (5'–3')	Repeat motif of sequenced clone	Size (bp)	No. of alleles	Allele size range (bp)	H_O	F_{IS}	EMBL GenBank Accession no.
Da1A01*	Da	F: TATAATCGGCCAGAGG R: TGTTGGAAGCCATAGAGAA	(GT) ₈	204	5	212–236	0.07	-0.02*	AJ880381
Da1C12*	Da	F: GCCTTGTGTGCGTATCT R: AATCGGCTACACTCATCT	(GT) ₉	163	2	160–162	0.64	-0.32*	AJ880366
Da1D08#	Da	F: GATGCTATGAACCACTAA R: TTGACAGTGAGAGATGGA	(CA) ₈	309	12	320–358	0.89	-0.10***	AJ880367
Da1F08*	Da	F: AATGCTTCGTAATCCAAC R: CTATAAGGAATTGGTGCC	(TG) ₁₃	177	7	159–173	0.56	0.06 NS	AJ880368
Da3G04#	Da	F: CACGGCTTGACCTATC R: TTATTCAGGGCTGGTG	(AC) ₁₂	305	4	318–341	0.27	+0.51***	AJ880369
Dab2C05*	Dab	F: CCCATGCTTGTAGTTGT R: TGCTCACCTCTTTACTTG	(GA) ₁₉	190	12	168–198	0.83	-0.25*	AJ880370
Dab2C12#	Dab	F: AGGCATCTTGGGAAA R: CGAAGATCCAATAAAA	(AC) ₈	182	1	179	0.00	—	AJ880371
Dab2D06*	Dab	F: TGTAAAGATGCCACATT R: TCTCAGGCTTCAGGG	(CT) ₁₉	174	12	155–285	0.91	-0.11*	AJ880372
Dab2D08*	Dab	F: ACAAGAGAACCGACATAGT R: GATTTGCTTTCAGTCCCTT	(AG) ₁₆	335	8	325–351	0.90	-0.11*	AJ880373
Dab2E07*	Dab	F: TTGAACCTTGACTTTGGT R: GAGTTCCTGTCCCTGGT	(CT) ₂₃	152	14	129–173	0.86	-0.01 NS	AJ880374
Dab2E09*	Dab	F: AACATATAAGAGAGATCA R: ATAACCCCTTAAC TCCA	(GAA) ₈	119	5	102–138	0.09	0.27 NS	AJ880375
Dpr3B12*	Dpr	F: CATCAATCTTTCTCTGCTT R: CCTCACACAATCCATC	(TG) ₈	135	4	129–141	0.17	+0.51*	AJ880376
Dpr3D06*	Dpr	F: ATAGGAAGGCAATCAGG R: ACCCATGCTTACCC	(GA) ₁₅	151	6	144–156	0.93	-0.21***	AJ880377
Dpr3F04*	Dpr	F: AGACTCTTGTCTCTGT R: GCCTTGTACTTTATTC	(AG) ₁₅	128	6	115–127	0.64	-0.06 NS	AJ880378
Dpr3 F10#	Dpr	F: TCAAAGGAATGTTGGG R: ACCCACATAGGGATTG	(GA) ₂₇	166	14	137–174	0.94	-0.27***	AJ880379
Dpr3F12#	Dpr	F: TCCCATGAAACAAAGT R: TCAAGCAAGAGAGGTTG	(GA) ₁₆	178	5	162–171	0.78	-0.14***	AJ880380

Allele size range, number of alleles, observed heterozygosity (H_O , percentage of heterozygous individuals) and F_{IS} , fixation index (significance levels * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$) were estimated by genotyping 146 *D. rotundata* accessions (*) or by genotyping 56 *D. rotundata* accessions (#).

Acknowledgements

We thank Genoscope (Centre National de Séquençage, Evry, France) for sequencing the yam SSR clones and C. Bastide and V. Salles for their assistance. This research was supported by CIRAD, IRD and Genoscope.

References

- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (2004) *genex 4.05, Logiciel sous Windows™ pour la Génétique des Populations*. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Billote N, Lagoda P, Risterucci A, Baurens FC (1999) Microsatellite-enriched libraries: applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. *Fruits*, **54**, 277–288.
- Goudet J (2001) *istat, A Program to Estimate and Test GENE Diver-*
- sities and Fixation Indices (Version 2.9.3)*. Institute of Ecology, Biology building, UNIL, CH-1015 Lausanne, Switzerland.
- Liu J (2002) *POWERMARKER – A Powerful Software for Marker Data Analysis*. North Carolina State University Bioinformatics Research Center, Raleigh, North Carolina, USA (<http://www.powermarker.net>).
- Mignouna HD, Abang MM, Fagbemi SA (2003) A comparative assessment of molecular markers assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterisation. *Annals of Applied Biology*, **142**, 269–276.
- Risterucci A-M, Grivet L, N'Goran J-A-K, Pieretti J, Flament M-H, Lanaud C (2000) A high density linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theoretical and Applied Genetics*, **101**, 948–955.
- Scarcelli N, Dainou O, Agbangla C, Tostain S, Pham J-L (2005) Segregation patterns of isozyme loci and microsatellite markers show the diploidy of African yam *Dioscorea rotundata* ($2n = 40$). *Theoretical and Applied Genetics*, **111**, 226–232.
- Terauchi R, Konuma A (1994) Microsatellite polymorphism in *Dioscorea tokoro*, a wild yam species. *Genome*, **37**, 794–801.

Structure et dynamique de la diversité d'une plante cultivée à multiplication végétative : le cas des ignames au Bénin (*Dioscorea* sp.)

Nous avons étudié comment les pratiques paysannes contribuent à la dynamique et la structuration de la diversité d'une plante cultivée à multiplication végétative, l'igname (*Dioscorea* sp.) au Bénin.

Dans un premier temps, nous avons montré la diploïdie des espèces étudiées (*D. rotundata*, *D. abyssinica* et *D. praehensilis*).

Nous avons mis en évidence des flux de gènes entre les compartiments sauvage (*D. abyssinica* et *D. praehensilis*) et cultivé (*D. rotundata*). Tout d'abord, nous avons montré l'existence et la viabilité d'hybrides interspécifiques. Puis, nous avons montré qu'à travers la pratique de l'ennoblissement, certains paysans créent de nouvelles variétés à partir d'individus sauvages, d'hybrides interspécifiques et probablement à partir d'hybrides inter-variétaux. Les paysans utilisent donc la reproduction sexuée des ignames sauvages et cultivées et participent ainsi à maintenir les processus évolutifs chez cette plante à multiplication végétative.

Nous avons ensuite analysé la diversité du compartiment cultivé et son organisation à l'échelle d'un village. Nos résultats suggèrent que les variétés d'ignames ont été créées à partir de produits de reproduction sexuée. Les variétés sont polyclonales mais homogènes génétiquement. En effet, cette diversité s'interprète comme des mutants dérivant d'un même génotype. Enfin, les agriculteurs cultivent les mêmes groupes de variétés et échangent des tubercules entre eux, ce qui conduit à une absence de différenciation entre les pools génétiques cultivés par les différents paysans.

Mots clés

igname, diversité, flux de gènes, multiplication végétative, reproduction sexuée, clonalité, pratiques paysannes, ennoblissement, ploïdie, Bénin

Structure and dynamics of the diversity of a vegetatively propagated crop: the case of yam (*Dioscorea* sp.) in Benin.

We studied how farmers' practices contribute to the dynamics and the structure of the diversity of a vegetatively propagated crop, yam (*Dioscorea* sp.) in Benin.

First, we showed the diploidy of the studied species (*D. rotundata*, *D. abyssinica* and *D. praehensilis*).

We analysed gene flows between wild (*D. abyssinica* and *D. praehensilis*) and cultivated (*D. rotundata*) species. First, we showed the existence and the viability of inter-specific hybrids. Then, we showed that through the ennoblement practice, some farmers create new varieties from wild plants, inter-specific hybrids and probably from inter-varieta hybrids. Farmers thus use the sexual reproduction of wild and cultivated yams and maintain evolutionary processes in this vegetatively propagated crop.

We then analysed the diversity of the cultivated species and its structure at village level. Our results suggest that yam varieties were created from products of sexual reproduction. Varieties are polyclonal but genetically homogeneous. Indeed, this diversity is interpreted as mutants that derived from the same genotype. Lastly, farmers cultivate the same variety group and exchange tubers, which explains the lack of differentiation observed between the genetic pools cultivated by different farmers.

Keywords

Yam, diversity, gene flow, vegetative multiplication, sexual reproduction, clonality, farmers' practices, ennoblement, ploidy, Benin

Laboratoire

Equipe Anthropisation et Dynamique de la Diversité Génétique des Plantes (DYNADIV), UMR 1097 Diversité et Génomes des Plantes Cultivées. IRD Montpellier