



Variabilité génétique des accessions d'igname *Dioscorea alata* L. introduites au Bénin à partir des Îles du Sud-Pacifique

Hubert ADOUKONOU-SAGBADJA*, Antoine Abel MISSIHOUN, Paulin SEDAHA, Rollande Aladé DAGBA, Geoffroy KINHOEGBE, Corneille AHANHANZO & Clément AGBANGLA

Département de Génétique et des Biotechnologies, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi, BP 526 Cotonou Bénin

*Auteur de correspondance : Tel : (+ 229) 95 85 28 38 / 96 72 76 05; Email : hadoukas@yahoo.fr

Original submitted in on 19th November 2013 Published online at www.m.elewa.org on 31st January 2014.

RÉSUMÉ

Objectif: L'igname est l'une des plus importantes cultures vivrières à tubercules en Afrique de l'Ouest, en particulier au Bénin. Dans le but de renforcer la variabilité génétique des ignames cultivées *D. alata* (L.) au Bénin, une collection de 21 accessions a été récemment introduite des îles du Sud-Pacifique grâce à une coopération CIRAD-Institut National de Recherche Agricole du Bénin (INRAB). Le présent travail a pour objectif d'évaluer la variabilité génétique au sein de cette collection afin de favoriser son utilisation rationnelle.

Méthodologies et résultats : Pour cette investigation, 10 marqueurs microsatellites et 17 traits agromorphologiques ont été utilisés. Une variation phénotypique significative a été observée dans la collection, notamment au niveau de nombreux attributs qualitatifs. Sur le plan moléculaire, un total de 40 allèles a été détecté avec en moyenne 4 allèles par locus. Neuf des 10 marqueurs microsatellites SSR utilisés se sont révélés discriminants avec une valeur moyenne du Potentiel en Information du Polymorphisme (PIC) estimée à 0,239. Les similarités génétiques estimées entre les accessions varient amplement (0,11 – 0,87), suggérant qu'une importante diversité existe dans la collection. L'étude de la structuration de cette variabilité génétique permet de classer les accessions en trois classes phénotypiques et deux groupes génétiques différents au sein de la collection.

Conclusion : Ces résultats ont montré que les accessions introduites sont morphologiquement et génétiquement très diversifiées et contribuent donc significativement au renforcement de la diversité génétique des ignames cultivées au Bénin.

Mots clés : Agro-morphologie, Bénin, *D. alata*, Diversité génétique, Îles Pacifiques, SSRs

Abstract

Objective: Yam is one of the most important tuber crops grown in West Africa, in particular in Benin. In order to reinforce the genetic variability of water yam *D. alata* (L.) cultivated in Benin, a collection of 21 accessions was recently introduced from the South Pacific Islands through the cooperation of CIRAD and National Institute of Agricultural Research of Benin (INRAB). The objective of this study was to assess the genetic diversity in this collection for favoring its rational use.

Methodology and results: To conduct this investigation, ten microsatellites loci and 17 agro-morphological traits were used. A significant phenotypic variation was observed within the collection, mainly at many qualitative

attributes. At molecular level, a total of 40 alleles was detected with an average allele number of 4 per locus. Nine of 10 microsatellites used were found to be discriminative with a mean value of Polymorphic Information Content (PIC) estimated at 0.239. Genetic similarities estimated between the accessions varied widely (0.11-0.87), suggesting that an important genetic variability exist in the collection. The inference of the structure of such genetic variability revealed the existence of two genetic groups organized into three phenotypic classes within the collection.

Conclusion: These results revealed that the introduced accessions are morphologically and genetically well diversified and thus will contribute significantly in reinforcing the existing local water yam genetic diversity in Benin.

Key words: Agro-morphology, Benin, *D. alata*, Genetic Diversity, Pacific Islands, SSRs

INTRODUCTION

L'igname est une importante plante à tubercule cultivée dans de nombreux pays à travers le monde et plus particulièrement en Afrique de l'Ouest. Elle appartient au genre *Dioscorea* qui renferme plus de 600 espèces regroupées en 59 sections dont la plus importante est celle des *Enantiophyllum* qui contient pratiquement toutes les espèces alimentaires les plus importantes (Coursey 1967). Malgré cette grande diversité des espèces, seules dix d'entre elles sont cultivées. Parmi ces espèces, seules les espèces *Dioscorea alata* et le complexe *D. cayenensis* – *D. rotundata* font l'objet d'une culture à grande échelle et présentent une importance économique réelle surtout en Afrique (Dansi *et al.* 2000). L'igname est la deuxième plante à racines et tubercules la plus produite derrière le manioc avec une production annuelle mondiale estimée à 48,3 millions de tonnes (FAOSAT, 2012). L'Afrique de l'Ouest à elle seule produit plus des 3/4 de la production et constitue de ce fait la plus importante zone de production mondiale. Dans cette région, l'igname constitue l'une des principales sources d'amidon des populations des cinq grands pays producteurs que sont le Nigeria, la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Bénin et le Togo. Sur le plan alimentaire, en effet, l'igname permet de mieux couvrir les besoins énergétiques ainsi que les besoins en protéines, sels minéraux et vitamines (Treche 1998 ; Scarcelli 2005). En plus du rôle prépondérant joué dans la sécurité alimentaire, l'igname prend une place importante dans la vie économique, culturelle et religieuse de différents peuples d'Afrique. Au Bénin, l'igname occupe une place importante dans la production vivrière des populations locales

(Adoukonou-Sagbadja 2001 ; Scarcelli 2005). Au total, 147 488 hectares ont été emblavés pour une production d'igname de 2 047 006 tonnes avec un rendement de 13 879 tonnes/hectare lors de la campagne agricole 2009/2010 contre 2 624 011 tonnes et 2 734 831 tonnes respectivement lors des campagnes agricoles 2010/2011 et 2011/2012 (MAEP Annuaire statistique 2010 – 2011). Cette tendance soutenue à la hausse de la production ces deux dernières décennies démontre l'intérêt désormais accordé par les décideurs politiques pour cette culture en matière de sécurité alimentaire dans la région. De nombreuses études comme celles de Adoukonou-Sagbadja (2001) et de Azéhoun et Dansi (2010) ont montré l'importance des échanges variétaux dans le brassage et la dissémination géographique des variétés d'igname dans les zones de production. Au Bénin, la culture du *Dioscorea alata* est exclusivement basée sur le Florido, la seule variété cultivée par les producteurs (Azéhoun et Dansi 2010). Dans le contexte social ouest-africain où l'igname occupe une place importante dans l'économie, la pratique d'ennoblissement des ignames sauvages qui permettait jadis de créer la diversité est en pleine régression (Adoukonou-Sagbadja 2001, 2003 ; Scarcelli *et al.* 2010). Il s'avère ainsi indispensable de prévenir les disparitions de génotypes en mettant l'accent sur les échanges variétaux mais surtout en mettant à la disposition des agriculteurs de nouvelles variétés pouvant répondre aux aspirations aussi bien des producteurs que des consommateurs. Dans cette optique, l'INRAB (Institut National de la Recherche Agricole du Bénin) en collaboration avec l'IITA

(Institut International d'Agriculture Tropicale) a amorcé une sélection participative de nouveaux clones d'igname depuis 1994 (Azéhoun et Dansi 2010). Dans la même dynamique et à la faveur de la coopération Nord-Sud (CIRAD / France – INRAB / Bénin), des accessions de *Dioscorea alata* ont été importées des Îles du Sud-Pacifique en 2006 et en 2007 et maintenues en station de recherche. Ces apports non seulement permettront d'élargir la base variétale de l'espèce *Dioscorea alata* cultivé au Bénin mais ils constitueront aussi une opportunité pour les producteurs d'igname de disposer de nouvelles variétés pour assurer, à long terme, la sécurité alimentaire. Pour mieux exploiter cette nouvelle collection, il est important de connaître l'identité génétique et les potentialités agronomiques des accessions qui seront ainsi mises à disposition des producteurs. Divers marqueurs moléculaires sont actuellement utilisés pour mieux évaluer la diversité génétique chez les plantes. Ces marqueurs peuvent être utilisés seuls ou en complément aux traditionnels marqueurs agro-morphologiques connus pour être trop sensibles aux facteurs environnementaux (Adoukonou-Sagbadja *et al.* 2007). Chez les ignames, les marqueurs génétiques moléculaires comme les isozymes (Hamon 1988), les RFLPs (Terrauchi *et al.* 1992), les RAPDs (Asemota *et al.* 1996, Dansi *et al.* 2000), les AFLPs (Mignouna *et al.* 1998, Agbangla *et al.* 2002, Egesi

et al. 2006, Tamiru *et al.* 2007) et les SSRs (Scarcelli *et al.* 2005, Missihoun *et al.* 2009) sont déjà utilisés avec succès pour évaluer la variation génétique au sein des collections et de déterminer leur relations phylogénétiques. Au nombre de ces marqueurs, les SSRs (Simple Sequence Repeats ou microsatellites) sont connus pour être les plus efficaces et les mieux indiqués pour les études de diversité et de structuration génétiques à cause de leur haut niveau de polymorphisme chez l'igname (Mignouna *et al.* 2003, Missihoun *et al.* 2009, Obidiegwu *et al.* 2009, Tostain *et al.* 2007, Scarcelli *et al.* 2010). En ce qui concerne l'intérêt des microsatellites en génétique, ils sont connus, en plus de leur haut degré de polymorphisme, pour être des marqueurs neutres, co-dominants et avantageusement bien distribués sur l'ensemble du génome (Powell *et al.* 1996, Santoni *et al.* 2000). L'objectif général de ce travail est d'évaluer la variabilité génétique des accessions de *Dioscorea alata* introduites au Bénin à partir des Îles du Sud-Pacifique pour une exploitation efficiente de ces ressources génétiques dans l'agriculture béninoise. Spécifiquement, il s'est agit (1) d'estimer la variabilité phénotypique des accessions par une évaluation agro-morphologique se basant sur les descripteurs recommandés par Bioversity International et (2) de déterminer celle génétique au niveau moléculaire à l'aide des marqueurs microsatellites nucléaires (SSRs).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal : Le matériel végétal analysé est constitué de 21 accessions d'igname *Dioscorea alata* introduites au Bénin à partir des Îles du Sud-Pacifique par le CIRAD (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, France) et l'INRAB en 2006 et 2007 et maintenues en collection au Département de Génétique et des Biotechnologies (FAST/ UAC, Bénin).

Méthodes

Évaluation agro-morphologique : Les accessions ont été semées pendant la saison hivernale 2012-2013 dans des butes sur le site expérimental du Département de Génétique et des Biotechnologies de l'Université d'Abomey-Calavi (Position géographique : 6°24'57"N, 2°20'31"E). Un dispositif en bloc aléatoire randomisé avec trois répétitions a été adopté pour l'installation des essais. Chaque bloc est constitué de quatre rangées

(lignes) de 11 butes dont les deux centrales sont utilisées pour la collecte des données. L'écartement entre deux rangées est de 0,5 m alors que celui entre deux butes est de 40 cm sur chaque ligne. L'arrosage des plantes a été réalisé quand le besoin s'était fait sentir. Aucune fertilisation n'a été effectuée. Pour la collecte des données, les descripteurs morphologiques utilisés sont ceux recommandés par Bioversity (IPGRI / IITA 1997) et déjà utilisés dans l'étude de la diversité morphogénétique des ignames de l'espèce *D. alata* cultivées au Bénin (Azéhoun et Dansi 2010). Au total 15 variables qualitatives et deux quantitatives prenant en compte la tige, les feuilles, et les tubercules ont été retenues et mesurées (Tableau 1). Pour les variables quantitatives, la moyenne des mesures de 3 plants pris au hasard est considérée pour chacune des accessions.

Tableau1 : Paramètres agro-morphologiques utilisés pour l'évaluation de la collection

Type de variables	Variables	Codification
Qualitatif	Couleur de la jeune tige	COTj
	Couleur de la tige adulte	COTa
	Couleur des ailes de la jeune tige	CATj
	Couleur des ailes de la tige adulte	CATa
	Couleur de la jeune feuille	COFj
	Couleur de la feuille adulte	COFa
	Couleur de la marge de la jeune feuille	CMFj
	Couleur des nervures de la jeune feuille	CNFj
	Couleur du pétiole de la jeune feuille	COPj
	Couleur du pétiole de la feuille adulte	COPa
	Couleur des ailes du pétiole de la feuille juvénile	CAPj
	Couleur des ailes du pétiole de la feuille adulte	CAPa
	Forme des feuilles	FOF
	Forme de l'extrémité de la feuille	FEF
	Disposition des feuilles (phyllotaxie)	DFE
Quantitatif	Nombre de tubercules par butte	NTB
	Longueur des tubercules	LGT

Caractérisation génétique moléculaire : L'ADN génomique total de jeunes feuilles de chacune des échantillons d'igname a été extrait selon le protocole proposé par Gawel et Jarret (1991) utilisant le MATAB (*Mixed Alkyl Triméthyl Ammonium Bromide*) et déjà utilisé avec succès sur les ignames (Agbangla *et al.* 2002, Missihoun *et al.* 2009). La pelote d'ADN obtenue a été reprise dans 300 µL d'eau ultra pure stérile. Pour tester la qualité des extraits, une électrophorèse sur gel d'agarose à 1% suivie d'une visualisation des bandes d'ADN avec un trans-illuminateur à Ultraviolet a été effectuée.

Pour la conduite des analyses, dix des marqueurs microsatellites recommandés par Tostain *et al.* (2006) ont été utilisés pour caractériser les 21 accessions (Tableau 2). Brièvement, les ADN extraits ont été dilués avec l'eau ultra pure stérile en vue d'obtenir une concentration en ADN d'environ 10 ng/µl nécessaire à la réaction d'amplification PCR. Un milieu réactionnel de 25µl a été

constitué pour chaque échantillon puis porté au thermocycleur de Type Peltier-Effect Cycling (PTC-100™). Le programme de la réaction PCR est celui utilisé par Tostain *et al.* (2006). Il est constitué d'une initiation à 94 °C pendant 5 mn et de 35 cycles de réactions. Chaque cycle est constitué de trois phases : la première phase dite de dénaturation conduite à 94 °C pendant 30 s, la deuxième phase dite d'hybridation des amorces rendue possible grâce à un abaissement de température jusqu'à 51 °C pendant 1mn et la troisième phase dite d'élongation à partir des amorces conduite à 72 °C. Une extension finale à 72 °C pendant 8 mn met fin à la réaction. Les produits de réaction sont enfin séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide dénaturant à 5% pendant 1 heure 30 min à 2 heures. Après migration, la révélation des plaques électrophorétiques a été faite au nitrate d'argent.

Tableau 2: Caractéristiques des marqueurs microsatellites utilisés pour l'analyse génétique des 21 accessions de *D. alata* introduites au Bénin

Marqueurs	Séquences des amorces	Motif de base	Taille en pb
Da1D08	F: GATGCTATGAACACAATAA R: TTTGACAGTGAGAATGGA	(CA) ₈	309
Dab2D08	F: ACAAGAGAACCGACATAGT R: GATTTGCTTTGAGTCCTT	(AG) ₁₆	335
Dpr3F10	F: TCAAAGGAATGTTGGG R: ACGCACATAGGGATTG	(GA) ₂₇	166
Dab2E09	F: AACATATAAAGAGAGATCA R: ATAACCCTTAACCTCA	(GAA) ₈	119
β	F: CCCATGCTTGTAGTTGT R: TGCTCACCTCTTACTTG	(GA) ₁₉	190
Da1F08	F: AATGCTTCGTAATCCAAC R: CTATAAGGAATTGGTGCC	(TG) ₁₃	177
Da1A01	F: TATAATCGGCCAGAGG R: TGTTGGAAGCATAGAGAA	(GT) ₈	207
Da1C12	F: GCCTTTGTGCGTATCT R: AATCGGCTACACTCATCT	(GT) ₉	163
Da2G12	F: AGGCATCTTGGGAAA R: CGAACGATCCAATAAAA	(AC) ₈	182

Analyse statistique des données : Pour la conduite des différentes analyses, les données morphologiques et moléculaires ont été codées et documentées séparément pour constituer des matrices de données dans Excel. La variation phénotypique au sein de la collection est estimée à travers les statistiques descriptives des données morphologiques. Pour regrouper les accessions en classes morphologiques homogènes et élucider les relations phénotypiques entre les accessions étudiées, un dendrogramme UPGMA basé sur le coefficient de similarité simple (simple matching) proposé par Sokal et Michener (1958) a été construit en se basant sur les caractères qualitatifs polymorphiques documentés en utilisant le logiciel NTSYS version 2.21f. Pour les données moléculaires, les paramètres génétiques calculés pour décrire la diversité sont le taux de

polymorphisme (P), la diversité allélique et la valeur PIC (Polymorphism Information Content). Pour élucider les relations génétiques entre les accessions, les similarités génétiques entre accessions ont été calculées selon la formule de Dice (1945). La matrice de distance obtenue a servi à la construction d'un dendrogramme par la méthode UPGMA à travers la procédure SAHN du logiciel NTSYS version 2.21f. Par ailleurs, une analyse en Coordonnées Principales (PCoA) utilisant les procédures DCENTER et EIGEN de ce logiciel a été effectuée pour confirmer la classification des différentes accessions dans les groupes génétiques obtenues à partir du dendrogramme. Enfin, les différentes classes génétiques observées ont été décrites sur la base des données morphologiques documentées.

RÉSULTATS

Variabilité morphologique dans la collection des accessions de *Dioscorea alata*: Dans la collection, tous les 17 traits retenus ont présenté une variation significative, ce qui présage d'une variabilité phénotypique substantielle au sein des accessions

analysées. Pour les traits qualitatifs, cette variation est observable aussi bien au niveau des feuilles que de la tige. La forme des extrémités des feuilles et la position des feuilles sont les traits qui ont montré les plus grandes variations au sein de la collection. Par ailleurs,

l'observation attentive des plantes en végétation a révélé un certain degré de corrélation entre certains traits étudiés. Ainsi, les variables comme la couleur des ailes du pétiole de la feuille (CAP), la couleur du pétiole de la feuille (COP), etc. sont fortement corrélées. Enfin, pour les traits quantitatifs, la majorité des accessions ont produit un à 2 tubercules avec quelques accessions produisant jusqu'à 5 tubercules. Ceux-ci sont de petite taille, variant entre 20 et 30 cm de long avec une moyenne de 24,5 cm. La figure 1 présente les relations phénotypiques et la classification des accessions en classes morphologiques homogènes à partir des 15 traits qualitatifs polymorphiques. A 83% de similarité, trois classes morphologiques peuvent être distinguées sur le dendrogramme. La classe phénotypique 1 (CP1) est constituée de trois accessions, la classe phénotypique 2 (CP2) composée de 12 accessions et enfin la classe phénotypique 3 (CP3) qui comporte 6 accessions. La classe 1 est essentiellement constituée des accessions présentant de jeunes feuilles à nervures essentiellement vertes dont les pétioles sont violets à l'état juvénile tournant au vert aux extrémités violettes à l'état adulte.

Les feuilles sont de forme sagittée allongée et à phyllotaxie opposée. La classe 2 est essentiellement constituée des accessions dont la tige verte à l'état jeune possède des ailes de couleur verte à vert à bord violet, la jeune feuille avait une marge de couleur violette, une nervure violet-clair, un pétiole entièrement vert avec les deux extrémités violettes mais présentant des ailes vertes à bords violets ou entièrement violettes, les feuilles adultes étaient cordées mais présentant un pétiole aux ailes vertes et à bord violet, la tige présentait des ailes vert à bord violet. La phyllotaxie est alterne à la base mais opposée au sommet. La classe 3 est composée des accessions dont la tige à l'état jeune possède des ailes de couleur verte et à bord violet, la jeune feuille avait une marge de couleur variant entre le vert et le violet, une nervure violet-clair, un pétiole entièrement vert mais présentant des ailes vertes à bords violets ou entièrement violets, les feuilles adultes à base cordé-élargie mais présentant un pétiole aux ailes de couleur verte et à bord violet, la tige présentait des ailes vertes à bord violet, la phyllotaxie est variable.

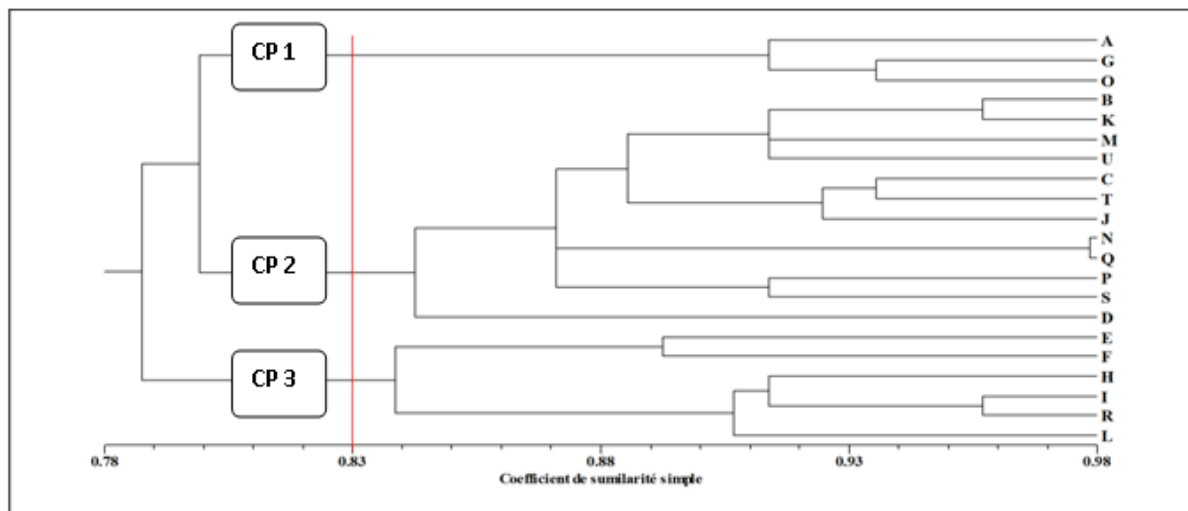


Fig. 1 : Dendrogramme UPGMA construit sur la base des données morphologiques qualitatives et montrant les relations et classes phénotypiques entre accessions d'igname *D. alata* introduites au Bénin

Diversité génétique révélée au sein de la collection
Taux de polymorphisme des marqueurs microsatellites: Pour la collection analysée, tous les dix marqueurs utilisés se sont révélés polymorphes (Tableau 3). Le nombre total d'allèles enregistrés pour les dix marqueurs est de 40 donnant une moyenne de 4 allèles par locus et un taux de polymorphisme de 100%. La

valeur du PIC (potentiel en information du polymorphisme) calculée pour chaque paire d'amorces varie de 0,025 à 0,617 avec une moyenne de 0,239. Parmi ces marqueurs, le Da1G12 est le plus informatif alors que le Dab2D08 a un pouvoir discriminant extrêmement faible.

Tableau 3 : Nombre d'allèles, estimation du PIC des marqueurs SSR utilisés

Marqueurs SSR utilisés	Nombre d'allèles détectés	PIC
Da1G12	3	0,617
Da1C12	5	0,188
Dpr3F10	3	0,39
Dab2EO9	2	0,125
Da1A01	5	0,188
Dab2D08	8	0,025
Da1D08	3	0,408
Da2D11	5	0,098
Dab2C05	4	0,116
Da1F08	2	-
Moyenne	4	0,239

Relations génétiques et classification des accessions : Le tableau 4 montre les similarités génétiques de Dice (1945) calculées entre accessions au sein de la collection d'igname analysée. Les plus faibles similarités génétiques sont observées entre les couples d'accessions F/S (11%), A/Q et G/P (17% respectivement) alors que les couples d'accessions B/M (88%), G/O et C/U (89%) ont montré les plus grandes similarités. La classification des différentes accessions en

groupes génétiques basée sur la matrice de similarité est illustrée par le dendrogramme représenté sur la figure 2. Deux groupes génétiques majeurs ont été identifiés dans la collection. Le premier groupe génétique (G1) est composé des accessions A, G et O de la classe morphologique CP1 et l'accession R précédemment classée dans la CP3. Le second groupe génétique (G2), très diversifié, est constitué de l'ensemble des autres accessions des classes phénotypiques CP2 et CP3.

Tableau 4 : Similarité génétique (Dice 1945) estimée entre les différentes accessions de *Dioscorea alata* introduites au Bénin

Codes	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
A	1																				
B	0,38	1																			
C	0,42	0,78	1																		
D	0,35	0,71	0,80	1																	
E	0,35	0,57	0,66	0,66	1																
F	0,43	0,43	0,56	0,56	0,64	1															
G	0,74	0,29	0,48	0,41	0,55	0,50	1														
H	0,51	0,66	0,48	0,55	0,55	0,50	0,28	1													
I	0,38	0,76	0,71	0,64	0,50	0,52	0,29	0,59	1												
J	0,40	0,64	0,66	0,81	0,44	0,27	0,31	0,46	0,48	1											
K	0,38	0,84	0,78	0,71	0,57	0,61	0,37	0,66	0,84	0,48	1										
L	0,25	0,50	0,46	0,53	0,53	0,38	0,32	0,32	0,33	0,43	0,33	1									
M	0,40	0,88	0,74	0,81	0,59	0,45	0,31	0,61	0,72	0,75	0,72	0,52	1								
N	0,24	0,72	0,74	0,81	0,59	0,45	0,31	0,46	0,64	0,66	0,72	0,43	0,75	1							
O	0,85	0,28	0,46	0,40	0,53	0,48	0,89	0,41	0,35	0,29	0,42	0,23	0,29	0,29	1						
P	0,27	0,72	0,75	0,66	0,41	0,21	0,17	0,43	0,54	0,66	0,54	0,40	0,76	0,76	0,16	1					
Q	0,17	0,60	0,80	0,72	0,48	0,40	0,33	0,33	0,52	0,54	0,61	0,38	0,63	0,81	0,24	0,84	1				
R	0,57	0,35	0,53	0,53	0,60	0,48	0,68	0,41	0,42	0,44	0,50	0,23	0,37	0,37	0,73	0,25	0,32	1			
S	0,27	0,54	0,41	0,50	0,33	0,11	0,34	0,34	0,36	0,57	0,36	0,40	0,47	0,38	0,25	0,44	0,42	0,41	1		
T	0,36	0,72	0,75	0,66	0,41	0,31	0,26	0,34	0,54	0,76	0,54	0,40	0,66	0,57	0,25	0,66	0,52	0,33	0,44	1	
U	0,37	0,81	0,89	0,82	0,68	0,58	0,42	0,50	0,74	0,69	0,81	0,56	0,76	0,84	0,41	0,69	0,75	0,48	0,43	0,78	1

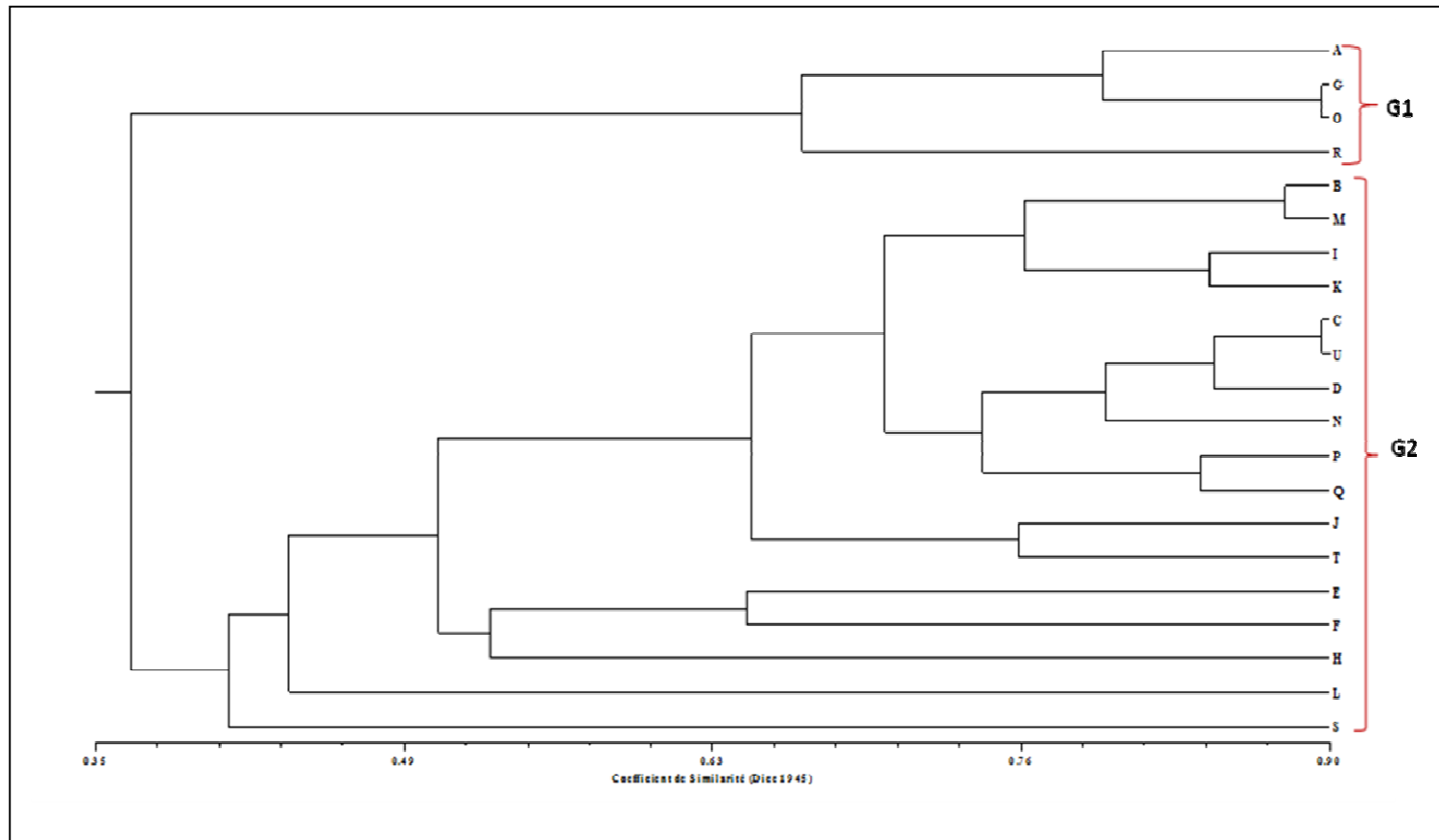


Figure 2 : Dendrogramme montrant les groupes génétiques identifiés dans la collection de *D. alata* introduite au Bénin au moyen des marqueurs SSRs

L'analyse en Coordonnées Principales (PCoA) effectuée en se basant sur la matrice de similarité confirme cette structure génétique au sein de la collection. Le tableau 5 résume la contribution des cinq premiers axes à l'inertie totale. La première composante principale explique 28,39% de la variation totale, la deuxième 13,32% et la troisième 10,41%. Le premier plan factoriel (1 et 2)

expliquant 41,71% de la variance totale montre clairement les deux groupes génétiques révélés par la méthode UPGMA (Fig. 3). Les caractéristiques agromorphologiques majeures des groupes génétiques et classes phénotypiques obtenus sont résumées dans le tableau 5

Tableau 5 : Valeurs propres des cinq premiers axes obtenus par analyse en coordonnées principales des données moléculaires SSRs

N° des axes	Valeur d'Eigen	Variance Totale (%)	Val. Cumul. (%)
1	2,72	28,39	28,39
2	1,27	13,32	41,71
3	0,99	10,41	52,12
4	0,91	9,49	61,62
5	0,66	6,94	68,56

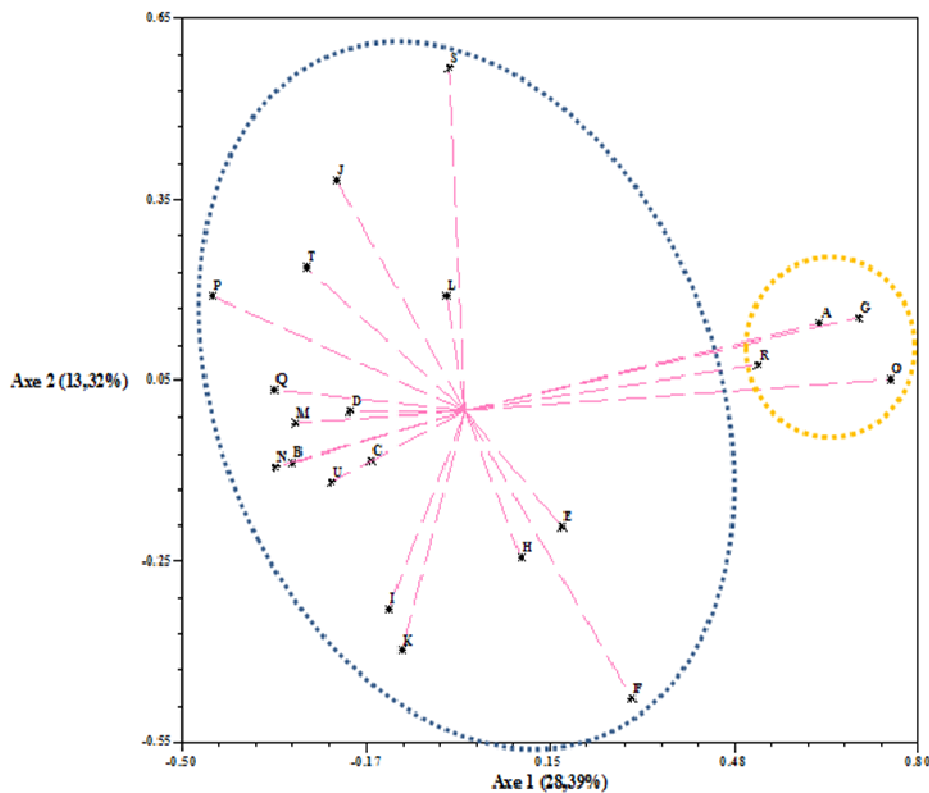


Figure 3 : Analyse en Coordonnées Principales des accessions de *D. alata* introduites au Bénin basée sur les données moléculaires SSRs

Tableau 6: Quelques caractéristiques agro-morphologiques des groupes génétiques et classes phénotypiques identifiés au sein de la collection de *D. alata* introduite au Bénin

Variables	G 1			G 2		
	CP 1	CP 2	CP 3	CP 1	CP 2	CP 3
NTB	2 à 5	2 à 5	1			
LGT (cm)	22	20	30			
CATj	vert	vert à bord violet	vert à bord violet			
CATa	violet	vert à bords violet	variable			
CMFj	violet	violet	vert ou violet			
CNFj	vert	violet clair	violet clair			
COPj	violet	variable	vert			
COPa	vert aux extrémités violettes	vert aux extrémités violettes	vert			
CAPj	violet	violet	vert			
CAPa	vert à bords violet	vert à bords violet	vert à bords violet ou entièrement vert			
FOF	sagittée allongée	cordée	variable			
FEF	aigue	aigue ou arrondie	variable			
DFE	opposée	alterne (base), opposée (sommet)	variable			
COTj	vert violacé	vert	vert			
COTa	vert	vert	vert			
COFj	vert violacé	variable	variable			
COFa	jaunâtre	vert foncé	variable			

DISCUSSION

Dans cette étude, des approches morphologiques et moléculaires (SSRs) ont été utilisées pour évaluer la variabilité génétique au sein d'une collection d'igname de *Dioscorea alata* récemment introduite au Bénin. Diverses études conduites à travers le monde (Mignouna *et al.* 2002, Agbangla *et al.* 2002, Obidiegou *et al.* 2009, Azéhoun et Dansi 2010, Siqueira *et al.* 2012) ont montré la grande diversité génétique au sein de cette espèce. La présente étude confirme ces observations en révélant que les accessions nouvellement introduites sont morphologiquement et génétiquement très diversifiées. Dans les zones de production d'igname au Bénin, cinq morphotypes plus ou moins structurés ont été identifiés dans le germoplasme de *D. alata* en exploitation par les producteurs (Azéhoun et Dansi 2010). L'introduction de ces accessions constitue donc un apport génétique significatif dans le renforcement du pool génétique de cette espèce cultivée au Bénin. Dans cette étude, seulement deux traits agronomiques à savoir la longueur et le nombre des tubercules ont été considérés ; ce qui n'a pas permis de bien apprécier les potentialités agronomiques des accessions introduites. Une étude complémentaire s'avère donc nécessaire pour exploiter au mieux les potentialités agronomiques offertes par cet apport de diversité au niveau paysan. Bien que bon nombre de paramètres morphologiques qualitatifs considérés n'aient montré aucune variabilité dans la

collection, les résultats ont montré que la combinaison des données documentées au niveau des 15 paramètres retenus est suffisante pour permettre une identification et une classification morphologique des accessions de la collection analysée. Ce fait est conforme aux observations antérieures de Azéhoun et Dansi (2010) et confirme l'importance de ces paramètres qualitatifs dans l'évaluation de la diversité génétique chez *D. alata*. Par ailleurs, les marqueurs microsatellites utilisés se sont tous révélés polymorphiques produisant au total 40 allèles qui, clairement, ont permis de différencier la quasi-totalité des accessions analysées. Néanmoins, la grande variation observée au niveau du pouvoir discriminant de ces marqueurs SSRs (PIC compris entre 0,025 et 0,617) suggère qu'une sélection adéquate de ceux-ci s'avère nécessaire pour une meilleure efficacité dans l'identification ou la discrimination des échantillons ou variétés de *D. alata* au niveau moléculaire. Globalement, les analyses morphologiques et génétiques ont permis de mieux comprendre la structure génétique au sein de la collection. En effet, deux groupes génétiques organisés en trois classes phénotypiques peuvent être identifiés. Comme l'ont déjà si bien rapporté par Ram *et al.* (2004) ou Adoukonou-Sagbadja *et al.* (2007), ces résultats démontrent encore l'avantage d'une utilisation combinée des paramètres morphologiques et marqueurs moléculaires dans la caractérisation des ressources

génétiques des plantes. Les accessions analysées dans cette étude proviennent des Îles du Pacifique Sud, une très vaste région aux caractéristiques écologiques très diversifiées. Comme il est clairement admis aujourd'hui (cf. Adoukonou-Sagbadja *et al.* 2007, etc.), la variation génétique au sein des espèces est souvent corrélée à des paramètres géographiques, écologiques, etc. Dans cette étude, nous avons pu démontrer l'existence d'une variabilité génétique structurée au sein de la collection de *D. alata*; variabilité qui serait certainement liée aux paramètres géographiques et aux caractéristiques agro-écologiques diverses prévalant dans la région d'origine de la collection. Malheureusement, l'absence de données de référence accompagnant cette collection (noms des variétés, lieux de collecte, agro-écologies, etc.) n'a pas permis de ressortir une telle corrélation et de comprendre les facteurs qui sous-tendent ou expliquent cette variabilité observée au sein de la collection. La connaissance des caractéristiques morphologiques et génétiques au sein d'une collection de germoplasme est une importante étape pour sa conservation et son exploitation en amélioration génétique. Dans cette étude, des informations importantes ont été obtenues sur le niveau de diversité et de l'organisation génétique des accessions de *D. alata* introduites au Bénin. Les groupes

génétiques et les trois classes phénotypiques très divergents obtenus peuvent être avantageusement exploités dans des croisements pour l'amélioration génétique des cultivars au Bénin. Mais il reste à démontrer que ces groupes génétiques sont des groupes hétérotiques dans le sens que les croisements entre eux ou avec les cultivars locaux puissent donner une réponse positive au niveau des importants traits agronomiques. Les marqueurs microsatellites apparaissent ici comme de puissants outils de caractérisation des ressources phylogénétiques pouvant être utilisés pour sélectionner les individus capable de répondre au mieux à l'hétérosis. En conclusion, la présente étude a révélé un profil intéressant du niveau et de la structure de la variabilité génétique au sein de la collection des accessions de *Dioscorea alata* récemment introduites au Bénin. De plus amples études sont encore indispensables pour évaluer les potentialités agronomiques et surtout les comportements de ces accessions vis-à-vis des majeurs pathogènes d'igname qui sévissent dans la zone de production au Bénin. En attendant, une attention particulière doit être accordée à cette collection qui est une source importante de diversité pour renforcer les ressources génétiques des ignames au Bénin.

REMERCIEMENTS

Le présent travail a été entièrement financé par le Département de Génétique et des Biotechnologies de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université

d'Abomey-Calavi. Nous remercions très sincèrement le CIRAD et l'INRAB pour avoir mis à notre disposition les échantillons de *D. alata* analysés.

RÉFÉRENCES

- Adoukonou Sagbadja H, 2001. Gestion paysanne de la diversité génétique des ignames du complexe *Dioscorea cayennensis/D. rotundata* au centre du Bénin. Mémoire de DEA, Université de Lomé, Togo; 56 p.
- Adoukonou Sagbadja H, 2003. Pratiques endogènes de gestion et de conservation des ressources génétiques des ignames du Bénin. IRDCAM/INRAB/UNEP-GEF; 22p.
- Adoukonou-Sagbadja H, Wagner C, Dansi A, Ahlemeyer J, Dainou O, Akpagana K, Ordon F, Friedt W, 2007. Genetic diversity and population differentiation of fonio millet (*Digitaria spp.*) landraces from different agro-ecological zones of West Africa. *Theoretical and Applied Genetics* 115: 917-931
- Agbangla C, Ahanhanzo C, Tostain S, Dansi A, Dainou O, 2002. Evaluation de la diversité génétique d'un échantillon de *Dioscorea alata* d'une région du Bénin, la Sous-Préfecture de Savè. *J. Rech. Sci. Uni. Lomé. (Togo)* 6 (1) : 197-202.
- Asemota HN, Ramser J, Lopez-Peralta C, Weising K, Kahl G, 1996. Genetic variation and cultivar identification of Jamaican yam germplasm by random amplified polymorphic DNA analysis. *Euphytica*. 92:341-351.
- Azéhoun Pazou J, Dansi A, Diversité morphologique et génétique des ignames de l'espèce *Dioscorea alata* cultivées au Bénin, 2010. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin* 67:9-19.
- IPGRI/IITA. 1997. Descripteur de l'igname (*Dioscorea spp.*). Institut international d'agriculture tropicale, Ibadan, Nigeria/Institut international des ressources phylogénétiques, Rome, Italie, 65 p.
- Bousalem M, Arnau G, Hochu I, Arnolin R, Viader V, Santoni S, David J 2006. Microsatellite segregation analysis and cytogenetic evidence for tetrasomic inheritance in the American yam

- Dioscorea trifida* and a new basic chromosome number in the *Dioscorea*. *Theor Appl Genet* 113:439-451.
- Coursey DG, 1967. Yams: an account of the nature, origins, cultivation and utilization of the useful members of Dioscoreaceae. *Longmans, Greens and Co. Ltd., London, UK*, 230 p.
- Dansi A, Mignouna HD, Zoundjihékpon J, Sangare A, Ahoussou N, Asiedu R. 2000. Identification of some Benin Republic's Guinea yam (*Dioscorea cayenensis*/*Dioscorea rotundata* complex) cultivars using randomly amplified polymorphic DNA. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 47: 619-625.
- Dice LR, 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26: 297-302.
- DNA. *Theor. Appl. Genet.* 83, 743-751
- Egesi CN, Asiedu R, Ude G, Ogunyemi S and Egunjobi J K, 2006. AFLP marker diversity in water yam (*Dioscorea alata* L.). *Plant Genetic Resources* 4(3):181-187.
- FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012. Production: crops. Available at: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>. Accessed at: 27 September 2012.
- Gawel NJ, Jarret R L, 1991. A modified CTAB in MATAB: DNA extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. *Plant Mol.* 9: 262-266.
- Guinea yams as revealed by RFLP analysis of chloroplast DNA and nuclear ribosomal
- MAEP/SS/DPP: Service Statistique/Direction de la Programmation et de la Prospective/ Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche. *Statistique agricole*, 2010-2011.
- Mignouna HD, Abang M M, Fagbemi S A, 2003. A comparative assessment of molecular marker assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata* Poir) germplasm characterisation. *Annals of Applied Biology* 142: 269-276.
- Mignouna HD, Ellis NTH, Knox MR, Asiedu R. and Ng Q N, 1998. Analysis of genetic diversity in Guinea yams (*Dioscorea* spp.) using AFLP fingerprinting. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 75:224-229.
- Mignouna HD, Mank RA, Ellis THN, Van Den Bosch N, Asiedu R, Abang MM, Peleman J, 2002. A genetic linkage map of water yam (*Dioscorea alata* L.) based on ALFP markers and QTL analysis for anthracnose resistance. *Theor. Appl. Genet.* 105: 726-735.
- Missihoun AA, Ahanhanzo C, Agbangla C, Chair H, Dansi A, Akpagana K, 2009. Évaluation génétique du processus de la domestication des ignames sauvages *Dioscorea abyssinica*, dans l'État de Nasarawa (Nigéria) par les marqueurs microsatellites (SSR). Comparaison des ignames pré-domestiquées avec les variétés locales des ignames cultivées (*Dioscorea rotundata* Poir). *J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo)* 11 (1): 31-39.
- Obidiegwu JE, Asiedu REE, Ene-Obong EE, Muoneke C O, Kolesnikova-Allen M, 2009. Genetic characterization of some water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions in West Africa with simple sequence repeats. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 7 : 634-638.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.*, 2: 225-238.
- Ram A, Zaccari M, Pasternak D, Bustan A, 2004. Analysis of phenotypic and genetic polymorphism among accessions of salt grass (*Distichlis spicata*). *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 687-699
- Santoni S, Faivre-Rampant P, Prado E, Prat D. 2000. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cah. Agric.*, 9: 311-327.
- Scarcelli N, 2005. Structure et dynamique de la diversité d'une plante cultivée à multiplication végétative : le cas des ignames au Bénin (*Dioscorea* sp.). *These de Doctorat*, 229 p.
- Scarcelli N, Dainou O, Agbangla C, Tostain S, and Pham JL, 2005. Segregation patterns of isozyme loci and microsatellite markers show the diploidy of African yam (*Dioscorea rotundata* L.) (2n = 40). *Theor Appl Genet.* 111: 226–232.
- Segnou CA, Fatokun MO, Akoroda and Hahn S K, 1992. Studies on the reproductive biology of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir) *Euphytica* 64: 197-203.
- Siqueira, M V B M, Dequigiovanni G, Corazon-Guivini M A, Feltran J C, Veasey E A, 2012. DNA fingerprinting of water yam (*Dioscorea alata* L) cultivars in Brazil based on microsatellite markers. *Horticultura Brasileira* 30: 653-659.

- Tamiru M, Becker HC and Maass BL, 2007. Genetic diversity in yam germplasm from Ethiopia and their relatedness to the main cultivated *Dioscorea* species assessed by AFLP markers. *Crop Science* 47:1744-1753.
- Terauchi R, Chikaleke VA, Thottappilly G & Hahn SK (1992) Origin and phylogeny of
- Tostain S, Agbangla C, Scarcelli N, Mariac C, Dainou O, Berthaud J and Pham JL, 2007. Genetic diversity analysis of yam cultivar (*Dioscorea rotundata* Poir.) in Benin using simple sequence repeat (SSR) markers. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 5 (2):71-81.
- Tostain S, Scarcelli N, Brottier P, Marchand JL, Pham JL and Noyer JL, 2006. Development of DNA microsatellite markers in tropical yam (*Dioscorea* sp.). *Molecular Ecology* 6:173-175.
- 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