

École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) El Harrach - Alger
THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES AGRONOMIQUES

*Etude de la diversité génétique de
quelques écotypes locaux de Vigna
unguiculata (L.) Walp. Cultivés en Algérie*

GHALMI Naima

Mme Mekliche-Hanifi L. Maître de Conférence, ENSA Alger ...Directeur de thèse
Mr Baudoin J.P. Professeur à l'Université de Liège-BelgiqueCo-Directeur de thèse
25/05/2011

Thèse soutenue publiquement devant le jury composé de : Mr Ounane S.M.Professeur, ENSA
Alger .. Président Mr Khelifi L. Professeur, ENSA Alger Examineur Mme Abrous-Belbachir O.
Professeur, USTHB Alger Examineur Melle Benbouza H. Maître de Conférence, Université de Batna
Examineur

Table des matières

Résumé . .	6
ص—خ—ل—م—ن . .	7
Abstract . .	8
Dédicace . .	9
Remerciements . .	10
Liste des abréviations . .	12
INTRODUCTION GENERALE . .	13
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE . .	16
1. ORIGINE ET CLASSIFICATION . .	16
1.1. CLASSIFICATION . .	16
1.2. ORIGINE, CENTRES DE DIVERSITÉ ET DE DOMESTICATION DE L'ESPÈCE <i>Vigna unguiculata</i> . .	17
2. IMPORTANCE ET UTILISATION . .	18
2.1. IMPORTANCE ÉCONOMIQUE . .	18
2.2. IMPORTANCE ALIMENTAIRE . .	19
2.3. IMPORTANCE AGRONOMIQUE . .	19
3. CONTRAINTES À LA PRODUCTION DU NIÉBÉ . .	20
3.1. CONTRAINTES ABIOTIQUES . .	21
3.2. CONTRAINTES BIOTIQUES . .	21
4. DIFFÉRENTS CARACTÈRES AGRO-MORPHOLOGIQUES CHEZ LE NIÉBÉ . .	23
5. ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE . .	24
5.1. LES MARQUEURS MORPHOLOGIQUES ET AGRONOMIQUES . .	24
5.2. LES MARQUEURS BIOCHIMIQUES . .	25
5.3. LES MARQUEURS MOLÉCULAIRES . .	25
CHAPITRE 2 : PROSPECTION ET COLLECTE DES ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ CULTIVÉS EN ALGÉRIE ET ENQUÊTE SUR LES SAVOIR FAIRE TRADITIONNELS QUI LEURS SONT LIÉS . .	29
1. INTRODUCTION . .	29
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES . .	30
2.1. PROSPECTION ET COLLECTE . .	30
2.1.1. Présentation des zones de prospection . .	31
2.2. Enquête . .	38
3. RÉSULTATS . .	39
3.1. PROSPECTION ET COLLECTE . .	39
3.2. ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE ET AGRONOMIQUE . .	49
4. DISCUSSION . .	62
4.1. PROSPECTION ET COLLECTE . .	62
4.2. ENQUÊTE . .	65
5. CONCLUSION . .	73
5.1. PROSPECTION ET COLLECTE . .	73
5.2. Enquête . .	74

CHAPITRE 3: CARACTÉRISATION AGRO-MORPHOLOGIQUE DE 28 ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ CULTIVÉS EN ALGÉRIE . .	75
1. INTRODUCTION . .	75
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES . .	76
2.1. MATÉRIEL VÉGÉTAL . .	76
2.2. PRÉSENTATION DE LA ZONE D'ÉTUDE . .	77
2.3. CARACTÈRES ÉTUDIÉS . .	78
2.4. ANALYSE DES DONNÉES . .	81
3. RÉSULTATS . .	82
3.1. CARACTÈRES QUANTITATIFS . .	83
3.2. Caractères qualitatifs . .	101
4. DISCUSSION . .	116
4.1. STADE VÉGÉTATIF . .	116
4.2. STADE FLORAISON . .	117
4.3. STADES GRAINES ET GOUSSES . .	118
5. CONCLUSION . .	122
CHAPITRE 4: ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ MORPHOLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE DE QUELQUES ÉCOTYPES ALGÉRIENS DE NIÉBÉ (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) . .	124
1. INTRODUCTION . .	124
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES . .	125
2.1. MATÉRIEL VÉGÉTAL . .	125
2.2. CARACTÉRISATION MORPHOLOGIQUE . .	127
2.3. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE . .	128
2.4. Analyse des données . .	134
3. RÉSULTATS . .	135
3.1. CARACTÉRISATION MORPHOLOGIQUE . .	135
3.2. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE . .	137
3.3. Comparaison des données morphologiques, moléculaires et géographiques . .	148
4. DISCUSSION . .	150
4.1. CARACTÉRISATION MORPHOLOGIQUE ET CLASSIFICATION EN CULTIGROUPES . .	150
4.2. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE . .	152
5. CONCLUSION . .	154
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES . .	156
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES . .	158
ANNEXES . .	174
ANNEXE 1-A : QUESTIONNAIRE DE L'ENQUÊTE (ASPECTS ETHNOBOTANIQUES) RÉALISÉE SUR LA CULTURE DU NIÉBÉ EN ALGÉRIE . .	174
ANNEXE 1-B : QUESTIONNAIRE DE L'ENQUÊTE (ASPECTS AGRONOMIQUES) RÉALISÉE SUR LA CULTURE DU NIÉBÉ EN ALGÉRIE . .	174
ANNEXE 2 : CARACTÈRES QUANTITATIFS DES 28 ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ ÉTUDIÉS . .	175
ANNEXE 3-A : CARACTÈRES QUALITATIFS DES ÉCOTYPES DU NIÉBÉ ORIGINAIRES DU NORD DE L'ALGÉRIE . .	176

ANNEXE 3-B : CARACTÈRES QUALITATIFS DES ÉCOTYPES DU NIÉBÉ ORIGINAIRES DES OASIS DU SAHARA . .	177
ANNEXE 4-A : COMPOSITION DU TAMPON TAE 50X . .	177
ANNEXE 4-B : COMPOSITION DU TAMPON TBE 1X . .	177

Résumé

Vigna unguiculata (L.) Walp., communément appelé niébé, est l'une des principales légumineuses alimentaires et fourragères du continent africain dont elle est originaire. En Algérie, le niébé est une ressource phytogénétique cultivée traditionnellement dans plusieurs zones distinctes : le nord (Kabylie, El Kala), le sud-ouest (Gourara, Touat, Tidikelt, Saoura) et le sud-est (Djanet). Les écotypes locaux du niébé, maintenus pendant plusieurs siècles dans des conditions écologiques différentes, ont pu accumuler une importante diversité génétique. Cent vingt-deux (121) accessions locales ont été collectées et caractérisées. L'évaluation préliminaire de cette collection a mis en évidence une grande diversité morphologique entre les graines provenant des différentes régions du pays. Des enquêtes ethnobotaniques et agronomiques ont été réalisées dans les agro-systèmes traditionnels de la Kabylie et des oasis du Sahara. Elles ont permis d'évaluer le niveau de l'agro-diversité en identifiant les pratiques agricoles traditionnelles basées sur l'utilisation des écotypes locaux de niébé. La caractérisation agro-morphologique de 28 écotypes a permis de révéler un polymorphisme inter accessions et d'établir une fiche descriptive des caractères de chaque accession. Selon l'importance morpho-agronomique de certains traits, nous avons pu distinguer les accessions représentant des caractères agronomiques forts intéressants. L'analyse moléculaire des accessions a permis la mise au point d'un protocole d'extraction de l'ADN génomique et des méthodes d'amplification en PCR par ISSR, RAPD. L'analyse par les marqueurs RAPD et ISSR a permis de différencier les écotypes étudiés. L'ISSR s'est montrée plus discriminante que la RAPD. **Cette étude a permis également de classer les écotypes algériens sur la base des cultigrupes de niébé existants, à la fois par la caractérisation moléculaire et morphologique.** Ainsi, trois classes représentant respectivement les cultigrupes **Unguiculata**, **Biflora** et **Melanophthalmus** ont été mises en évidence en Algérie.

Mots clés : *Vigna unguiculata*, niébé, diversité génétique, écotypes, enquête, prospection, caractérisation agro-morphologique, caractérisation moléculaire, RAPD, ISSR.

ص-خ-ل-ح-ا

تُعتبر *Vigna unguiculata* (L.) Walp. المعروفة باسم اللوبيا، من أهم البقوليات الغذائية و الحلفية في القارة الإفريقية حيث نشأت تحت اللوبيا في الجزائر من الموارد الوراثية النباتية التي تزرع تقليدياً في مناطق مختلفة مثل: الشمال (منطقة القبائل، القبلة)، الجنوب الغربي (وهران، نوات، تديكلت، سلورا) و الجنوب الشرقي (جانت). تمكنت الأصناف المحلية للوبيا المحفوظة لعدة قرون في ظروف بيئية مختلفة، من تجميع تنوع جيني كبير. لقد تمّ جمع و توصيف 121 صنفاً وأظهر التقييم الأولي لهذه التشكيلة، تنوعاً كبيراً في الصفات المورفولوجية للبدور التي تمّ جمعها من مناطق مختلفة من البلاد. وسمحت الدراسات الإثنوبنائية و الزراعية التي أجريت حول النظم الزراعية في منطقة القبائل التقليدية والواحات في الصحراء، بتقييم مستوى التنوع البيولوجي الزراعي عن طريق تحديد الممارسات الزراعية التقليدية في استخدام الأصناف المحلية للوبيا. وكشف التوصيف الزراعي المورفولوجي لـ 28 صنفاً، تعدد الأشكال بين السلالات و إنشاء قائمة من الخصائص لكل سلالة. و بحسب مدى أهمية الصفات المورفولوجية والزراعية، تمكنا من التمييز بين السلالات التي تمثل الخصائص الزراعية الجديرة بالاهتمام. و أتى التحليل الجزيئي للأصناف إلى وضع برونوكول لاستخراج الحمض النووي الجيني وأساليب التضخيم PCR عن طريق تقنيات ISSR، RAPD. لقد سمح التحليل بواسطة تقنيات RAPD و ISSR التمييز بين الأصناف التي تمت دراستها وكانت طريقة ISSR أكثر فعالية من RAPD. كما مكنت هذه الدراسة بتدريب الأصناف المحلية على أساس multigroups اللوبيا بواسطة كل من التوصيف الجزيئي و المورفولوجي. وبهذا أوضحت الدراسة وجود ثلاثة أصناف محلية و هي على التوالي: *Melanophthalmus* و *Biflora*، *Unguiculata*.

كلمات المفتاح: *Vigna unguiculata*، اللوبيا، تنوع جيني، الأصناف المحلية، التحقيقات، استكشاف، التوصيف الزراعي و المورفولوجي، التوصيف الجزيئي، RAPD، ISSR.

Abstract

Vigna unguiculata (L.) Walp., commonly named cowpea or “niébé” is originated from Africa where it is one of the main food and forage legumes. **In Algeria, cowpea is a plant genetic resource, traditionally cultivated in several distinct areas: the north (Kabylie, El Kala), the south-west (Gourara Tuat, Tidikelt, Saura) and the south-east (Djanet).** Algerian landraces of cowpea were maintained for several centuries in different ecological conditions, allowing an important genetic diversity. **One hundred twenty-two (121) landraces have been collected and characterized.** Preliminary assessment of this collection has highlighted a morphological diversity between seeds from different regions of the country. Ethnobotany and agronomic surveys have been conducted in the traditional agro-systems of Kabylia and Sahara oasis. These surveys have helped to assess the level of the agro-diversity by identifying traditional agricultural practices, based on the use of Cowpea landraces. The agro-morphologic characterization of 28 landraces of cowpea has revealed inter accessions polymorphism and has established a listing of the characters for each landrace. According to the morpho-agronomic importance of some traits, **we have been able to distinguish accessions representing interesting agronomic characters.** Molecular analysis of accessions has helped to develop a genomic DNA extraction protocol and RAPD ISSR PCR amplification. Analysis of RAPD and ISSR markers has allowed the differentiation among the cowpea landraces. The ISSR has been more discriminating than the RAPD. Also, this study has allowed the classification of the Algerian landraces, based on existing cowpea cultigroups, by morphological and Molecular characterization. Three classes representing the cultigroups *Unguiculata*, *Biflora* and *Melanophthalmus* respectively, have been identified in Algeria .

Keywords : *Vigna unguiculata*, Cowpea, genetic diversity, landraces, Surveys, prospection, agro-morphologic characterization, molecular characterization, RAPD, ISSR.

Dédicace

À mon père, Tu aurais tant aimé assister à l'aboutissement de ce travail, que Dieu Le Tout Puissant t'accueille en son Vaste Paradis. Merci papa pour les sacrifices consentis à mon éducation. L'avenir de tes enfants a toujours été le centre de tes préoccupations. Tu es toujours présent dans mon cœur et mon esprit. À ma mère, Ton souci majeur est de voir réussir tes enfants, tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé et longue vie.

Remerciements

Je remercie Dieu le Tout Puissant qui m'a donné la force morale et physique pour achever ce travail.

La réalisation d'une thèse est une longue épreuve pas toujours facile... Aussi, je tiens à dire un grand MERCI à toutes les personnes qui ont été à mes côtés pendant ces années et qui m'ont permis d'arriver au bout de ce travail.

Je ne saurais commencer mes remerciements sans évoquer la personne qui m'a orientée vers ce sujet de thèse et qui a initié cette aventure en me guidant dans des missions de prospections à El kala et Adrar. Mes pensées vont particulièrement à mon défunt professeur Benamara Salim, qui m'a tant appris, Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

Je remercie vivement le Dr Mekliche Leila pour avoir bien voulu diriger ce travail de thèse. Je lui exprime ma très profonde reconnaissance pour sa gentillesse, son efficacité et sa grande disponibilité au cours de ces années. Je tiens également à remercier, le professeur Jean Pierre Baudoin co-directeur de cette thèse, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, malgré ces multiples occupations, il a consacré une partie de son temps à mon encadrement, ses conseils ont été précieux et m'ont orientés tout au long de ce travail.

J'exprime ma profonde gratitude au Professeur Ounane Sidi .Mohamed, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de thèse de doctorat et pour l'intérêt et le soutien chaleureux dont il a toujours fait preuve. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes remerciements s'adressent aux Professeur Abrous Ouzna, Dr Benbouza Halima et Professeur Khelifi Lakhdar, pour avoir bien voulu accepté de faire partie de ce jury. Qu'ils sachent que je suis très honorée par leur présence.

Je remercie le Docteur Jean-Marie Jacquemin responsable de l'Unité Amélioration des Espèces et Biodiversité du Centre Wallon de Recherche Agronomique de Belgique (CRA-W) pour m'avoir si chaleureusement accepté dans son laboratoire de biologie moléculaire.

L'appui méthodologique et logistique de l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI) de Staouali a été déterminant lors de la conduite des essais. Je saisis l'occasion qui m'est offerte ici pour adresser mes sincères remerciements aux responsables ainsi qu'au personnel pour la qualité de leur accueil. Je remercie particulièrement l'ingénieur Bedj Mimi pour son aide durant le suivi des essais sur le terrain.

La réalisation des enquêtes a nécessité la mobilisation d'un grand nombre de personnes. Grand merci aux paysans des localités prospectées pour avoir accepté de partager leurs connaissances sur le niébé et d'avoir autorisé la collecte des graines et des gousses.

Je remercie également les responsables des directions des Services agricoles de Tizi-ouzou, Bejaia, El Taref, Bechar, Djanet, Ghardaia, du Parc National d'El kala, la Station de Recherche de l'INRAA de Adrar, la Direction des Forêts de Bechar et le Centre National de Recherche sur les Zones Arides (station de Béni-Abbés et d'El Goléa), pour leurs précieuses orientations, leurs aides pour l'hébergement et les déplacements sur le terrain et pour m'avoir permis de réaliser mes travaux dans une ambiance et un enthousiasme inoubliables.

Je remercie également les familles Deradji de Bejaia et Bediaff de Djanet pour leur accueil chaleureux et leur aide durant les missions de prospection et de collecte.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des étudiants qui ont contribué à cette recherche, particulièrement Zineb, Djemaa, youcef et Nabila pour leur participation aux enquêtes dans les régions de Kabylie, Djanet et Tidikelt.

Je rends un grand hommage au Dr Bernard China pour m'avoir initié à la biologie moléculaire et pour l'intérêt porté à mes travaux. Sa disponibilité tout au long de mon parcours doctoral, son soutien moral, ses qualités humaines, ses directives et ses conseils judicieux m'ont été d'un grand intérêt. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie tout particulièrement Mr Hakimi Mustapha mon ancien professeur d'Écologie qui a pris la relève de Mr Benamara et m'a fait l'honneur de me guider dans la suite de l'aventure, dans les sorties de prospection en Kabylie, à El Goléa et à Timimoun. Sa grande connaissance du terrain, son expérience et ces contacts m'ont été très utiles. Qu'il trouve ici la preuve de toute ma reconnaissance. Le trajet Alger- Timimoun par route restera un souvenir inoubliable.

Je remercie le Professeur Guezlane Ex Directeur de l'INA et Chef du Projet CNEPRU (amélioration de la productivité des légumineuses alimentaires) dont je fais partie, pour sa gentillesse et sa disponibilité. Sans ces encouragements et conseils ce travail n'aurait pas abouti. Je remercie également le Professeur Daoud (Ex Directeur de l'INA) pour m'avoir facilité toutes les démarches administratives et permis ainsi la finalisation de ce travail de thèse. Ces qualités scientifiques et humaines m'ont beaucoup marqués, qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

Je remercie aussi le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de pour l'octroi d'une bourse de formation PNE dans le cadre de la mise en œuvre du programme de formation résidentielle à l'étranger destiné aux enseignants et chercheurs. Ce financement, m'a permis d'achever mon travail de laboratoire et de finaliser mon document de thèse.

J'exprime ma profonde reconnaissance à mes amis, particulièrement à Lilia pour son amitié et son soutien morale lors des durs moments de labo en Belgique, à Karima , pour ses relectures, ses conseils et son éternel disponibilité, son soutien a été primordial à certains moments délicats . Je remercie Amina pour les moments partagés durant les sorties sur le terrain à Adrar, El Kala, la Kabylie et Djanet. Je remercie également Fateh pour son aide logistique apportée à l'amélioration de ce manuscrit.

Grand merci à la famille Guillaume de Gembloux pour son amitié et son accueil chaleureux pour tous mes séjours en Belgique.

Je ne saurais terminer sans remercier bien évidemment ma famille pour son indéfectible et inconditionnel soutien. Ils ont été présents pour écarter les doutes, soigner les blessures et partager les joies. Cette thèse est un peu la leur. Un grand merci à mes frères, mes sœurs, mes nièces et mes neveux. Je remercie en particulier mon frère Mustapha et ma sœur Mounira qui ont su jouer le rôle de protecteur et ont un peu remplacé mon père en me soutenant pendant les moments difficiles de cette thèse. Un merci particulier à mon mari Sofiane pour m'avoir soutenu et encouragé pour finaliser ce travail.

À tous ceux que je n'ai pas cité et qui, de près ou de loin, ont rendu ce travail possible.

Liste des abréviations

- **ACM** : Analyse des Correspondances Multiples
- **ACP**: Analyse en Composantes Principales
- **ADN, DNA** : acide désoxyribonucléique
- **AFLP** : Polymorphisme de Longueur de Fragments Amplifiés (Amplified Fragment Length Polymorphism)
- **AMOVA** : Analyse Moléculaire de la Variance
- **ANOVA** : Analyse de la Variance
- **CAH** : Classification Ascendante Hiérarchique
- **DC** : Coordonnées décimales
- **dNTP** : Désoxyribonucleide triphosphate
- **DSA** : Direction des Services Agricoles
- **EDTA** : Ethyl Diamine Tétra acétyle
- **FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
- **INRAA** : Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie
- **ISSR** : Amplification Inter-microsatellite (Inter-Simple Sequence Repeat)
- **ITCMI** : Institut Techniques des Cultures Maraîchères et Industrielles Staoueli
- **MANOVA** : Analyse de la Variance Multivariée
- **pb** : Paire de base
- **PCR** : Reaction de Polymerisation en Chaîne (Polymerase Chain Reaction)
- **RAPD**: Polymorphisme de l'ADN Amplifié au Hasard (**Random Amplified Polymorphic DNA**)
- **RFLP**: Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism)
- **SNP** : Polymorphisme d'un Nucléotide Simple (Single-Nucleotide Polymorphism)
- **SSR** : Séquence Répétée Simple ou Microsatellites SSR (Simple Sequence Repeat)
- **TAE** : Tampon Tris Acétate EDTA
- **Taq** : *Thermus aquaticus* (bactérie qui vit dans les sources chaudes)
- **TBE** : Tampon Tris - Borate- EDTA
- **U** : Unité
- **UV** : Ultra violet
- **µ l** : Microlitre
- **µ m** : Micromètre
- **µ mol** : Micromole

INTRODUCTION GENERALE

L'Algérie est un pays caractérisé par des régions très différentes d'un point de vue climatique, pédologique et géographique. Cela se reflète non seulement dans le grand nombre d'espèces cultivées, mais aussi dans la variabilité génétique des variétés locales de ces espèces. Ces dernières incluent des variétés traditionnelles du pays (écotypes), qui ont toujours existé ou qui ont été introduites depuis longtemps dans les différentes régions du pays. Elles constituent un réservoir de gènes intéressants pour les travaux d'amélioration génétique des plantes.

En Algérie, pour des raisons purement socioculturelles et malgré de nombreuses contraintes, les paysans continuent à conserver cette diversité génétique, en préservant et en cultivant les anciennes variétés. Le savoir-faire lié à ces ressources phylogénétiques est généralement transmis de génération en génération et révèle des informations importantes pour comprendre l'évolution et les caractéristiques des variétés traditionnelles. Il n'en demeure pas moins que ce patrimoine sera plus en plus menacé sous l'influence du mode de vie actuel et l'introduction massive de nouvelles variétés plus performantes, et le plus souvent importées.

Le niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp.) est une de ces espèces qui présente une grande diversité génétique en Algérie. Il a été introduit depuis fort longtemps dans le pays mais n'a jamais été cultivé très grande échelle. Les écotypes (un écotyle est une population d'une espèce donnée qui présente des caractéristiques nouvelles adaptées à un type de milieu particulier) ou cultivars ont été maintenus dans les régions les plus reculées (régions montagneuses, oasis du Sahara...) par les populations, qui au fil des siècles, ont su conserver certains écotypes de cette espèce, adaptés aux conditions locales, au climat et à des pratiques culturelles très diverses. La culture de ces plantes vivrières, transmise de façon ininterrompue de génération en génération dans des jardins domestiques, constitue un espace essentiel pour la conservation de cette ressource.

La présence de formes cultivées du niébé en Algérie a été signalée pour la première fois par certains auteurs. Chevalier (1932) citait des formes sahariennes sous le nom de *Vigna catjang* (L.) Walp., ou *L. ubia* ou *Adelghan*. Ces formes cultivées sont également citées par Trabut (1935) dans son répertoire des noms indigènes des plantes sous le nom berbère de *Tadelaght*. Anoun et Echikh (1990) entreprirent la première étude biosystématique des formes cultivées. Un premier travail de collecte d'échantillons de graines des cultivars traditionnels du niébé a eu lieu en 1996 par une équipe de chercheurs du Centre de Recherche Scientifique et Technique des Régions Arides (CRSTRA, Algérie), dans deux régions différentes en Algérie : les oasis du Touat (sud-ouest) et les montagnes de la Kabylie dans le nord de l'Algérie (Echikh *et al.*, 1997). Enfin, Echikh (2000) a présenté une étude iso-enzymatique des formes cultivées de *Vigna unguiculata* collectées dans les montagnes de Kabylie au nord et les oasis du Touat au sud.

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walpers, est l'une des principales légumineuses alimentaires et fourragères en Afrique. Très résistante au climat semi-aride et aride, sa culture est répartie dans toutes les zones tropicales, subtropicales et dans le bassin méditerranéen. Elle est présente dans divers systèmes de production, parmi les plus

marginiaux, allant des zones irriguées, pluviales aux zones marginales avec un sol pauvre et un climat aride, comme c'est le cas du Sahara algérien (Pasquet, 1998 ; Echikh, 2000).

Dans de nombreux pays tropicaux, le niébé fournit plus de la moitié des protéines consommées et joue un rôle clé dans l'alimentation des populations autochtones. Les graines de niébé possèdent une grande valeur nutritive (Ehlers et Hall, 1997).

Cette espèce s'adapte bien à la chaleur et la sécheresse (Hall et Patel, 1985), elle est considérée comme moyennement sensible à la salinité (Maas et Hoffman, 1977). Elle tolère les sols pauvres en raison de sa grande capacité à fixer l'azote (Eloward et Hall, 1987) et forme une association symbiotique efficace avec les mycorrhizes (Kwapata et Hall, 1985). En conséquence, elle peut jouer un rôle important dans le développement de l'agriculture particulièrement dans le Sahara algérien où la sécheresse et la salinité constituent des facteurs limitants.

Malgré les efforts des chercheurs, cette ressource reste très peu étudiée en Algérie. La conservation et la valorisation de cette espèce devient donc urgente. L'identification des sites de culture traditionnelle de cette espèce suivie par des missions de prospections et de collectes semblent indispensables pour l'établissement de collections des écotypes de niébé cultivés en Algérie, ainsi que l'étude des savoirs populaires qui leur sont liés, avant leur complète disparition.

La préservation de ce patrimoine local nécessite aussi une connaissance approfondie de sa diversité et de ses caractéristiques. L'évaluation de ces collections permettra l'établissement d'une base de données et l'identification d'écotypes présentant un intérêt certain pour le développement direct de l'espèce et son utilisation future dans des programmes de création variétale.

Dans le cadre de la contribution à l'amélioration et à la gestion de cette ressource génétique, une caractérisation adéquate des différentes accessions de niébé, provenant de différentes régions de l'Algérie, a été menée au cours de ces travaux. Les principaux objectifs du présent travail étaient :

1. La prospection et la collecte des écotypes locaux de niébé cultivés en Algérie avec la réalisation d'une enquête sur les savoir-faire traditionnels qui leurs sont liés afin de constituer une collection de niébé et mettre en place une base de données sur le savoir-faire traditionnel en Algérie.

2. L'évaluation de la diversité des écotypes algériens de niébé par différentes approches phénotypiques et moléculaires, afin d'établir les relations phylogénétiques inter-écotypes.

Le premier chapitre de cette thèse est consacré à une synthèse bibliographique sur l'espèce *Vigna unguiculata*, sa taxonomie, sa répartition géographique, ses propriétés, ses intérêts et les techniques utilisées dans sa différenciation et les études de sa diversité.

Le deuxième chapitre a pour objet la caractérisation préliminaire des graines collectées à travers le territoire algérien et l'étude des savoir-faire ancestraux qui leurs sont liés par la réalisation d'enquêtes ethnobotaniques et agronomiques dans trois régions de référence de culture de cette espèce à savoir : Tizi-Ouzou (Kabylie), Djanet (Tassili N'Ajjer) et le Tidikelt.

Dans le troisième chapitre, une caractérisation phénotypique basée sur l'analyse des caractères morfo-agronomiques liés à la plante (graines, gousses, fleurs et feuilles), a été mené essentiellement pour discriminer entre les différents écotypes du niébé cultivés en Algérie.

Le quatrième chapitre traitera enfin la mise au point de deux protocoles moléculaires : ISSR et RAPD, pour la caractérisation et l'évaluation du polymorphisme moléculaire entre vingt écotypes algériens de niébé ainsi que l'analyse de la diversité génétique résultant de ces marqueurs.

CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. ORIGINE ET CLASSIFICATION

1.1. CLASSIFICATION

Le niébé (*Vigna unguiculata* L Walp) est une espèce dicotylédonaire appartenant à la famille des Fabaceae, à la tribu des Phaseoleae, au genre *Vigna* et à la section catiang (Verdcourt 1970 ; Maréchal *et al.*, 1978).

L'espèce *Vigna unguiculata* L Walp contient 22 chromosomes ($2n=2X=22$). Le genre *Vigna* est relativement hétérogène (Verdcourt, 1970). Il contient plusieurs espèces cultivées importantes incluant *V. unguiculata* et *V. subterranea* (L.) Verdc. en Afrique, *V. mungo* (L.) Hepper, *V. radiata* (L.) Wilczek, *V. aconitifolia* (Jacq.) Maréchal, *V. angularis* (Willd.) Ohwi et Ohashi et *V. umbellata* (Thunb.) Ohwi & Ohashi en Asie. Le niébé est considéré comme l'espèce la plus importante économiquement à travers le monde (Ng et Padulosi, 1991).

Le niébé se caractérise par une très grande variabilité, il se compose de formes cultivées, i. e. *V. unguiculata* ssp. *unguiculata* var. *unguiculata*, de formes sauvages annuelles, i.e. ssp. *unguiculata* var. *spontanea* (Schweif.) Pasquet (Pasquet, 1993a), et de dix sous-espèces pérennes sauvages (Pasquet , 1993a ; 1997). Cette classification a été établie sur la base de résultats obtenus à partir d'analyses morphologiques (Pasquet, 1993a; Padulosi 1993), enzymatiques (Panella et Gepts, 1992; Vaillancourt *et al.*, 1993; Pasquet 1993b, 1999) et moléculaires ADNcp (Vaillancourt et Weeden, 1992). La forme spontanée annuelle var. *spontanea* est considérée comme le géniteur des formes cultivées du niébé (Pasquet, 1999).

Les formes cultivées de *Vigna unguiculata* sont regroupées dans la variété *unguiculata* de la sous-espèce *unguiculata* . Plusieurs approches ont été adoptées pour la taxonomie des formes cultivées ; la première conception la plus classique est celle développée par Piper (1912) qui a pris les trois groupes identifiés sur la base des caractères des graines et des gousses par Linné (1763) et les a classés en rang d'espèces . Une autre approche de Chevalier (1944) prend en considération le nombre de graines par gousse, qui constitue une différence importante par rapport à la classification de Piper. Chevalier divise le niébé ouest Africain en deux sous espèces suivant le nombre de graines par gousse.

L'approche, proposée par Westphal (1974), d'utiliser le rang de cultivar-groupe (cv gr) (chaque cultigroupe désigne un ensemble de cultivars ayant certains caractères en commun) est actuellement couramment utilisée. Ng et Maréchal (1985) reconnaissent 4 cultigrupes : Unguiculata, Biflora, Sesquipedalis et Textilis ajouté plus tard. Ce dernier est cultivé au Nigeria pour la qualité de ses fibres obtenues à partir des pédoncules. Pasquet (1998) a mis en évidence un nouveau cultigroupe « Melanophthalmus » autrefois confondu avec cv gr Unguiculata.

Actuellement, cinq groupes sont considérés au sein des formes cultivées :

- **Cv-gr Unguiculata** (Westphal, 1974)- cultivar photo-indépendant, essentiellement rencontré en Asie et en Afrique australe (Pasquet, 1998). Il possède des gousses pendantes de 13 à 30 centimètres de long, un tégument des graines épais et brillant et un nombre d'ovules élevé, avec parfois plus de 16 ovules par gousse (Pasquet et Baudoin, 2001). Les fleurs et les graines sont souvent colorées (Pasquet, 2000) ;
- **Cv-gr M elanophthalmus** (Pasquet, 1998) - cultivar photosensible à nombre d'ovule faible (inférieur à 17) et tégument des graines fin et souvent ridé, cultigroupe surtout ouest-africain, rencontré aussi dans le bassin méditerranéen et aux États-Unis. Il comporte des fleurs et des graines partiellement blanches. Ce cultigroupe est capable de fleurir rapidement en condition de jours courts (Pasquet, 1998 et 2000) ;
- **Cv-gr Biflora** (Westphal, 1974)- cultivar photosensible à nombre d'ovules faible et tégument des graines épais et lisse, c'est sans doute le cultigroupe ancestral, rencontré partout en Afrique. Les fleurs et les graines sont souvent colorées, avec moins de 17 ovules par gousse (Pasquet, 1998 et 2000). Ce cultigroupe est capable de fleurir rapidement en condition de jours courts (Pasquet, 2000) ;
- **Cv-gr Sesquipedalis** qui rassemble les formes à très longues gousses (haricot-Kilomètre du sud- est asiatique). Les gousses sont longues de plus de 30 cm, et les graines sont réniformes et espacées au sein de la gousse qui comporte plus de 17 ovules. Ce cultigroupe est originaire de l'est du continent asiatique et largement cultivé dans le Sud-est de l'Asie (Pasquet, 1998 et 2000) ;
- **Cv-gr Textilis** cultivars photo-sensibles à longs pédoncules floraux d'environ 40 cm à 1 m et originaire d'Afrique de l'ouest (Pasquet, 1998).

1.2. ORIGINE, CENTRES DE DIVERSITÉ ET DE DOMESTICATION DE L'ESPÈCE *Vigna unguiculata*

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.), est une des plus anciennes plantes du Néolithique (Chevalier, 1944). Du fait de l'absence de preuves archéologiques, les différentes théories sur le centre d'origine de l'espèce ont été formulées sur la base du degré de diversité observé entre les différents taxons de l'espèce et en fonction de l'aire de distribution des hypothétiques formes spontanées pro-géniteurs des formes cultivées (Padulosi, 1993). La première référence écrite mentionnant le niébé a été faite par Théophraste en 300 avant J.-C. (Chevalier 1944). Les Grecs ont obtenu les graines du niébé, à partir des populations d'Afrique du nord, qui ont eux-mêmes connu la plante à travers leur contact avec les Arabes (Chevalier 1944). Burkhil (1953) et Purseglove (1976) rapportent que le niébé était connu en Europe depuis 300 ans avant Jésus-Christ. Ils émettent l'hypothèse d'une introduction de la plante en Europe à partir du sud-est asiatique où elle a été précédemment introduite environ 2300 ans avant J-C.

Dans le Bassin Méditerranéen, notamment, dans les régions du sud de l'Italie, le niébé et le haricot commun sont souvent considérés par les fermiers locaux comme étant la même plante, au point que même aujourd'hui, ils sèment ces deux plantes en culture mixte dans les jardins potagers (Padulosi *et al.*, 1987 ; Laghetti *et al.*, 1990).

L'origine précise de la culture du niébé a été un sujet de spéculations et de discussions depuis de nombreuses années. L'origine africaine du niébé fut proposée très tôt par Piper (1912), ce qui n'est jusque là pas remis en cause dans la mesure où les formes sauvages de cette plante n'ont été aperçues qu'en Afrique et à Madagascar et non en Asie (Ng et Maréchal, 1985 ; Steele, 1976).

Si le lieu d'origine du niébé ne fait aucun doute, aujourd'hui, le centre de domestication de la plante reste encore incertain et plusieurs hypothèses sont formulées en fonction des auteurs. Certains auteurs ont proposé l'Afrique de l'ouest comme le centre de domestication (Faris, 1963 ; Maréchal *et al.*, 1978 ; Ng, 1995 ; Rawal, 1975). Beaucoup plus récemment, Vaillancourt et Weeden (1992) ont proposé le Nigeria, au vu des résultats de leur analyse de la variabilité de l'ADN chloroplastique. Mais le faible nombre d'échantillons étudiés fragilise leur argumentation.

Baudoin et Maréchal (1985) ont proposé l'Afrique de l'est et du sud comme centre de diversité primaire, et l'Afrique de l'ouest et central comme centre de diversité secondaire. Ces chercheurs ont également proposé l'Asie comme un troisième centre de diversité.

Des études plus récentes indiquent que la plus grande diversité génétique des formes sauvages primitives du niébé se trouve dans le continent africain (la Namibie, le Botswana, la Zambie, le Zimbabwe, le Mozambique, le Swaziland et l'Afrique du sud) (Padulosi, 1993; Padulosi *et al.*, 1990). Padulosi et Ng (1997) ont proposé l'Afrique du sud comme centre d'origine du niébé avec le passage des formes primitives à d'autres parties de l'Afrique du sud et de l'est, et par la suite en Afrique de l'ouest et en Asie. La sélection humaine de graines de plus grandes tailles et d'un meilleur habitus de croissance à partir de la variabilité naturelle des formes sauvages de niébé a permis de domestiquer et de mettre en place divers cultigrupes en Asie et en Afrique (Steele, 1976 ; Ng et Padulosi, 1991 ; Ba *et al.*, 2004 ; Ng, 1995).

Pasquet (1994) considère le nord-est de l'Afrique comme un éventuel centre de domestication du niébé. Cette hypothèse est également partagée par Coulibaly *et al.*, (2002) se basant sur les données des marqueurs moléculaires AFLP et montrent que la diversité génétique est plus grande chez les formes spontanées originaires de l'est de l'Afrique que chez celles de l'ouest. Ba *et al.*, (2004) s'appuyant sur les résultats de RAPD, confirment également l'origine est-africaine du niébé. Ces résultats méritent, cependant, d'être confirmés en analysant un nombre plus élevé d'accessions originaires de l'est et du nord-est de l'Afrique.

2. IMPORTANCE ET UTILISATION

2.1. IMPORTANCE ÉCONOMIQUE

Le niébé (*Vigna unguiculata* L Walp.) est la plus importante légumineuse à graines dans les zones de Savane tropicale d'Afrique. Il est cultivé et consommé extensivement en Asie, en Amérique du sud et du centre, dans les caraïbes, aux États Unis, dans le moyen orient, en Afrique australe et dans le bassin méditerranéen (Singh, 2002 ; Pasquet, 1993a). Il constitue aussi un important légume vert et une précieuse source de fourrage. La production mondiale pour 2009 est de 5,68 millions de tonnes de graines sèches (FAO, 2010) dont plus de 94 % sont produits en Afrique (FAO, 2010), faisant de cette région la première productrice et consommatrice de niébé dans le monde (CGIAR, 2001). Les principaux pays producteurs étant le Nigeria (2,9 millions tonnes sur 4,3 millions d'ha) et le Niger (1,3 millions de tonnes sur 5,2 millions d'ha) (FAO, 2010). La superficie cultivée en 2009 dans le monde s'élève à plus de 11,8 millions d'ha, dont 10 millions sont réalisés en Afrique de l'ouest, qui est la plus grande zone de production et de consommation du niébé dans le monde (Singh *et al.*, 1997 ;

FAO, 2010). En Algérie, cette espèce est traditionnellement cultivée et consommée dans certaines régions telles que la Kabylie, la zone Est de la Wilaya d'El Taref et les oasis du Sahara. Cette espèce qui semble liée aux vieilles cultures berbères n'est plus cultivée que sur des superficies très restreintes, relevant souvent du jardinage. Les graines de niébé sont produites pour la consommation domestique, et les surplus sont vendus sur les marchés locaux (Ghalmi *et al.*, 2005). Durant la saison sèche, dans certaines régions d'Afrique de l'ouest et du Centre, la valeur monétaire des fanes de niébé stockées devient très élevée (Quin, 1997). Des quantités importantes de ce produit peuvent être commercialisées ce qui fournit un complément de revenu parfois non négligeable aux populations rurales.

2.2. IMPORTANCE ALIMENTAIRE

Le niébé est le légume sec favori dans de nombreuses régions d'Afrique. Il est cultivé avant tout pour ses graines sèches, cuisinées sous les formes les plus diverses. Les feuilles ainsi que les graines et les gousses immatures de niébé sont consommées comme légumes.

En Algérie, il fait partie des traditions culinaires et il est utilisé comme ingrédient alimentaire pour une variété de plats locaux, comme le couscous. Dans les oasis au sud-ouest du Sahara algérien, les graines noires des formes locales sont administrées comme fortifiant. Cent grammes de graines mures contiennent: 56-66 g de glucides, 22-24 g de protéines, 11 g d'eau, 5.9-7.3 g de fibres brutes, 3.4-3.9 g de cendres, 1.3-1.5 g de matières grasses, 0,146 g de phosphore, 0.104-0.076 g de calcium, et 0,005 g de fer (Madamba *et al.*, 2006). Les graines contiennent également de petites quantités équivalentes de β -carotène, thiamine, riboflavine, vitamine A, niacine, acide folique et de l'acide ascorbique. Dans 100 g de feuilles de niébé on trouve : 85,0 % d'eau, 44 cal énergie I, 44 g de protéines, 0,3 g de matières grasses, 256 mg de calcium, 63 mg de phosphore, 5,7 mg de fer, 2,4 mg de β -carotène, 0,20 mg de thiamine, 0,37 mg de riboflavine, 2,1 mg de niacine et de 56 mg d'acide ascorbique (Pandey et Westphal, 1989). La graine est également riche en micro-éléments essentiels, tels que le fer, le calcium et le zinc (Quin, 1997).

Le niébé joue donc un rôle important dans la subsistance de beaucoup de familles rurales en Afrique, en Amérique latine et en Asie, en procurant les éléments nutritifs déficients chez les céréales.

Un avantage supplémentaire est que ses fanes constituent un fourrage précieux pour le bétail en raison de leur haute teneur en protéines (Timko *et al.*, 2007) Le niébé sert de fourrage en Afrique de l'ouest, en Asie (en Inde surtout) et en Australie ; soit les animaux le broutent directement, soit il est coupé et mélangé à des céréales sèches destinées à l'alimentation du bétail. Aux États-Unis et ailleurs, le niébé se cultive comme engrais vert et plante de couverture (Madamba *et al.*, 2006).

Plusieurs usages médicaux du niébé ont été signalés : les feuilles et les graines s'emploient en cataplasme pour traiter les enflures et les infections de la peau, les feuilles sont mâchées pour traiter les maladies dentaires, les graines carbonisées réduites en poudre sont appliquées sur les piqûres d'insectes, la racine sert d'antidote contre la morsure de serpent et pour traiter l'épilepsie, des douleurs dans la poitrine, la constipation et la dysménorrhée (Madamba *et al.*, 2006).

2.3. IMPORTANCE AGRONOMIQUE

A côté de l'importance que représente cette légumineuse comme aliment pour l'homme et pour son bétail, sa culture est essentielle dans les systèmes de production animale et céréalière dans les régions semi-arides. Dans toutes ces zones où l'on cultive le niébé, on retrouve le niébé en association avec le mil, le sorgho ou les arachides (Quin, 1997). Dans les associations culturales avec le sorgho ou le mil, il constitue un engrais vert (un apport de 60-70 kg/ha d'azote) ainsi qu'une plante de couverture pour empêcher la dégradation des sols cultivés. Les céréales sont semées après une saison de niébé afin de bénéficier de l'apport organique de la légumineuse dans le sol (Pasquet et Fotso, 1994). L'enfouissement des légumineuses améliore les qualités physico-chimiques du sol (Duke, 1983), le feuillage étendu réduit l'érosion du sol (Duke, 1983).

Dans les régions où la fertilité des sols est un facteur limitant, le niébé est également un composant important des systèmes de production agricoles. En raison de son taux élevé de fixation de l'azote (Eloward et Hall, 1987 ; Martins *et al.*, 2003), et sa symbiose avec les mycorhizes (Kwapata et Hall, 1985), il préserve les réserves naturelles du sol en azote et en phosphore, et de nombreuses études confirment que les niveaux d'azote des sols augmentent d'environ 40-80 kg N par ha avec le niébé comme précédent cultural dans une rotation (Quin, 1997). Le niébé a également la capacité de tolérer des sols acides et alcalins (Fery, 1990). En outre, Les cultivars précoces sont capables de produire des graines en moins de 55 jours après le semis et offrent aux agriculteurs la première source d'aliments avec une récolte précoce par rapport aux autres cultures (Hall *et al.*, 2003).

Le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) est considéré comme étant une espèce tolérante à la sécheresse (Ehlers et Hall, 1997 ; Hall 2004).

L'adaptation à la sécheresse chez cette espèce a été liée à la minimisation des pertes d'eau par la commande de l'ouverture des stomates et par son système racinaire qui peut explorer le sol en profondeur (Cruz De Carvalho *et al.*, 1998).

Hall et Patel (1985) ont signalé des rendements de niébé de 1000 kg /ha en grain sec dans les conditions climatiques du Sahel avec une faible humidité et seulement 181 mm de pluie. À l'heure actuelle, peu d'autres espèces de légumineuses sont capables de produire des quantités équivalentes dans les mêmes conditions.

En plus de sa tolérance à la sécheresse, le niébé est considéré comme étant tolérant à la chaleur (Ehlers et Hall, 1997). C'est une espèce de climat chaud. Ehlers et Hall (1997) ont signalé que le niébé peut se développer sous des températures dépassant 40°C. Cependant, cette culture est affectée par des températures nocturnes élevées (24 à 30°C) (Ehlers et Hall, 1998; Nielsen et Hall, 1985).

Le niébé est cultivé dans les zones agricoles (oasis du Sahara en Algérie), où la salinité de l'eau et des sols est un facteur limitant. Selon le classement de la tolérance des cultures à la salinité, le niébé est considéré comme une culture moyennement sensible (Maas et Hoffman, 1977) mais présentant une plus grande tolérance au sel au cours du dernier stade de sa croissance (Maas et Poss 1989). La tolérance du niébé à la salinité est plus grande que celle du maïs, mais moins importante que celle du blé, de l'orge, de la betterave à sucre et du coton (Hall et Frate, 1996).

3. CONTRAINTES À LA PRODUCTION DU NIÉBÉ

3.1. CONTRAINTES ABIOTIQUES

Les deux contraintes abiotiques les plus importantes sont la sécheresse et la chaleur même si le niébé est relativement adapté à ces deux contraintes.

Le niébé est principalement cultivé dans les régions arides et semi-arides de l'Afrique (zones à faible pluviométrie), où la sécheresse constitue un facteur limitant à la production de cette légumineuse (Watanabe *et al.*, 1997). L'effet de la sécheresse dans ces zones est lié aux besoins en eau imposés par l'élévation de l'évapotranspiration et l'irrégularité de la pluviométrie, et surtout la présence de vents chargés de sables, particulièrement dans les régions sahéliennes. Dans ces régions, les dégâts infligés à la plante par la sécheresse sont plus prononcés lorsqu'elle coïncide avec le remplissage des gousses (IITA, 1988). Ceci est particulièrement vrai pour les pays en développement où l'irrigation et l'amendement du sol, nécessaires pour limiter les atteintes de la sécheresse, sont réduits faute de ressources (Mai-Kodomi *et al.*, 1999).

La culture du niébé est également affectée dans les zones sahéliennes de l'Afrique de l'ouest par des températures nocturnes pouvant excéder parfois 20°C (Nielsen et Hall, 1985). En effet, les températures nocturnes élevées combinées aux jours longs peuvent entraîner l'arrêt du développement des boutons floraux et retarder la floraison. Ces températures peuvent perturber la microsporogénèse et conduire à une réduction de la fertilité pollinique, du taux d'obtention de gousses et du nombre de graines par gousse entraînant ainsi une baisse substantielle du rendement (Ahmed *et al.*, 1992 ; Ahmed et Hall, 1993 ; Ehlers et Hall, 1996 ; Warrag et Hall, 1984).

Le niébé est aussi très sensible aux basses températures. Selon Craufurd *et al.*, (1997) les températures nécessaires pour les différentes phases de développement de la plante du niébé varient de 7 °C à l'apparition des feuilles à 11 °C pour la germination des graines. La culture du niébé est soumise à d'autres contraintes abiotiques qui limitent sa production en zones tropicales ; comme la carence en azote et en phosphore, l'acidité et la toxicité aluminique des sols (Pasquet et Baudoin, 1997).

La salinité est également, un facteur qui limite fortement la production du niébé dans certains endroits surtout lorsqu'elle intervient au premier stade végétatif (Wilson *et al.*, 2006 ; Maas et Poss, 1989). En effet, on assiste parfois à des réductions de rendement de l'ordre de 50 % à cause de la concentration élevée de sel dans le sol (Flowers *et al.*, 1995). D'autres facteurs tels que l'excès d'humidité, la maturité tardive et la mauvaise qualité de la semence peuvent également limiter la production du niébé (Muleba et Ezumah, 1985).

3.2. CONTRAINTES BIOTIQUES

Les contraintes biotiques à la production du niébé sont constituées d'un très grand nombre de maladies et d'ennemis qui attaquent la plante à tous les stades de son développement. Ces attaques constituent certainement le facteur le plus limitant de la production intensive du niébé en Afrique tropicale, puisqu'elles peuvent occasionner une perte totale des rendements en graines (Vanderborght et Baudoin, 2001).

Le niébé est sensible à une large gamme de maladies bactériennes, fongiques et virales et une grande variété d'insectes ravageurs (Singh, 2005; Timko *et al.*, 2007). Dans les savanes de l'Afrique de l'ouest, les maladies bactériennes et cryptogamiques provoquent une réduction significative des rendements de la production du niébé dans ces zones (Emechebe et Shoyinka, 1985 ; Emechebe et Florini, 1997). Les maladies cryptogamiques

et fongiques les plus importantes sont les fontes de semis, la septoriose des feuilles, l'antracnose, la rhizoctoniose, la maladie des taches brunes, l'ascochytose et la rouille (Emechebe et Shoyinka, 1985 ; Emechebe et Florini, 1997 ; Pasquet et Baudoin, 1997 ; Vanderborgh et Baudoin, 2001). Dans ces régions, le niébé est victime de plusieurs maladies virales. En effet, plus de vingt virus ont été observés sur les plantes de niébé cultivées dans le monde. Parmi ces virus, ceux qui provoquent le plus de dégâts en Afrique sont : le *cowpea mosaic comovirus* (CPMV), le *cowpea aphid-borne mosaic potyvirus* (CABMV), le *cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), le *cowpea mild mottle carlavirus* (CPMMV), le *cowpea golden mosaic virus* (CGMV) et le *cowpea mottle carmovirus* (CPMoV) (Vanderborgh et Baudoin, 2001). Les symptômes de ces différentes maladies virales se manifestent fréquemment par des mosaïques, des chloroses de nervures foliaires et la défoliation des plantules (Purcifull et Gonsalves, 1985). Ces virus sont le plus souvent transmis au niébé par l'intermédiaire de vecteurs tels que les pucerons (Hampton *et al.*, 1997).

Les deux parasites les plus importants qui envahissent les cultures de *V. unguiculata* sont : *Striga gesnerioides* (Willd.) Vatke et *Alectra vogelii* (Benth.) (Singh, 1997). La distribution de *Striga gesnerioides* est très répandue, elle s'étend de l'Afrique subsaharienne aux USA et couvre une partie de l'Asie, tandis que *Alectra vogelii* n'est présent qu'en Afrique (Parker et Riches, 1993). Ces deux plantes sont des héli parasites de plantes, utilisant le système racinaire de la plante hôte pour puiser des éléments essentiels à leur survie, elles causent des dégâts considérables aux cultures de niébé, en réduisant de façon substantielle les rendements (Lagoke *et al.*, 1994). *Striga gesnerioides* est l'espèce qui se caractérise par l'incidence économique la plus sévère en Afrique surtout dans les zones semi-arides (Vanderborgh et Baudoin, 2001).

Les attaques des insectes constituent la contrainte majeure à la production du niébé sous les tropiques et particulièrement dans certains pays africains où elles provoquent, parfois, des pertes totales de rendement (Edema et Adipala, 1996 ; Karungi *et al.*, 2000 ; Omongo *et al.*, 1998 ; Rusoke et Rubaihayo, 1994 ; Sabiti *et al.*, 1994). Ces attaques d'insectes sur la plante du niébé ont lieu à tous les stades de développement de la plante aux champs et durant le stockage des graines (Emechebe et Shoyinka, 1985). Les dégâts causés par les insectes ravageurs sont parfois tellement sévères que les graines récoltées ne sont pas utilisables pour la nutrition humaine ou animale ou encore pour le semis (Sales *et al.*, 2000).

On rencontre en Afrique, six principaux ravageurs du niébé dont quatre sont généralement les plus répandus : les aphides, les thrips des fleurs, les foreuses des gousses et les punaises nuisibles. Ces insectes peuvent causer jusqu'à 100 % de pertes de rendement (IITA, 1988). En général, ce sont les insectes qui attaquent le niébé en période de post-floraison qui causent le plus de dégâts (50 et 85 % de pertes). Parmi ceux ci on peut citer les thrips dominés par *Megalurothrips sjostedi* Tryb, les foreuses de gousses, *Maruca vitrata* Fabricius (syn. *M. testulalis*) et les pucerons tels que *Aphis craccivora* Koch. (Jackai *et al.*, 1997).

Les cultures de niébé, en Afrique, sont également attaquées par des nématodes dont l'espèce la plus répandue dans cette région est *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Singh *et al.*, 1997). En général les dégâts causés par les nématodes sont moins spectaculaires que ceux provoqués par les maladies ou les insectes. Néanmoins, ils sont responsables, en cas de fortes présences, de plus de 37% de la réduction de croissance des plantes de niébé (Lamberti *et al.*, 1992).

4. DIFFÉRENTS CARACTÈRES AGRO-MORPHOLOGIQUES CHEZ LE NIÉBÉ

Le niébé est une plante herbacée annuelle ou vivace, grimpante, rampante ou plus ou moins érigée, cultivée comme annuelle. C'est une culture de saison chaude nécessitant des températures d'au moins 18°C à toutes les étapes de son développement avec une température optimale de croissance d'environ 28°C (Craufurd *et al.*, 1997).

La racine pivotante est en général bien développée. Les racines portent les bactéries qui sont responsables de la fixation symbiotique de l'azote et qui appartiennent au "Cowpea rhizobia group" (Mulongoy, 1985).

La germination du niébé est épigée. Les deux premières feuilles vraies sont opposées, sessiles, entières, tandis que le reste des feuilles sont alternes, pétiolées, et trifoliées. La structure de la plante varie selon le génotype, la température de croissance, et la photopériode. La croissance de la plante est érigée, semi-érigée, prostrée, ou grimpante. La plupart des plantes de niébé ont une croissance indéterminée. Toutefois, certaines des variétés à maturation précoce ont une croissance pseudo déterminée (Pasquet et Baudoin, 1997). Selon Fery (1985), l'inflorescence est axillaire et formée d'un pédoncule mesurant habituellement entre 10 et 30 cm, au bout duquel se trouve le rachis. Chaque nœud du rachis porte une paire de fleurs et un bourrelet de nectaires extra-floraux. Les fleurs papilionacées sont de grande taille.

Les formes cultivées du niébé, *V. unguiculata*, sont autogames et les allofécondations sont assez rares (Pasquet, 1993). Les fleurs s'ouvrent en général à la fin de la nuit et se referment en fin de matinée. La déhiscence des anthères se produit plusieurs heures avant que la fleur ne s'ouvre et le stigmate est réceptif deux jours avant l'ouverture de la fleur (Ladeinde et Bliss, 1977).

Le niébé est une plante de jours courts, même si un certain nombre de cultivars est photo indépendant (Ehlers et Hall, 1996 ; Craufurd *et al.*, 1997). La sensibilité à la photopériode est sans aucun doute le facteur de diversité le plus important. Ce caractère a été largement étudié, en particulier par Steele (1972) et Summerfield *et al.*, (1985). Cette photosensibilité permet une adaptation aux conditions locales. La photosensibilité serait contrôlée par un seul gène et la photo-indépendance des cultivars précoces serait récessive (Sène, 1967). La photopériode est le facteur environnemental le plus importante qui influe sur la date de floraison chez le niébé (Ishiyaku *et al.*, 2005).

Chez certains génotypes le degré de sensibilité à la photopériode (à savoir, le retard de la floraison) est influencé par la température (Ehlers et Hall, 1996). Summerfield *et al.*, (1985) sont arrivés à une bonne modélisation du démarrage de la floraison en fonction de la température et de la photopériode.

La date de floraison et de maturité est un aspect adaptatif important dans les cultures annuelles, notamment chez le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). La date de la floraison détermine la période de récolte (Roberts *et al.*, 1993).

Les caractéristiques des graines et des gousses sont très diversifiées chez les formes cultivées. Elles sont largement utilisées pour décrire les cultivars (Piper, 1912 ; Pasquet et Fotso, 1994) et identifier les cultigrupes (Pasquet, 1996).

Chez le niébé, la couleur de la fleur est généralement associée à la couleur du tégument de la graine, les fleurs violettes donnent des graines colorées et les fleurs blanches des graines de couleur blanche ou crème (Saunders, 1960). La couleur de la graine est

déterminée par le gène C « *general color factor* » associé aux gènes contrôlant les types de pigments anthocyanine acide, anthocyanine basique et mélanine dans les différentes couches du tégument. En présence du gène C la graine est colorée et la fleur est mauve. En son absence, la graine est partiellement blanche, ainsi que la fleur. Le gène C est dominant (Fery, 1985). Saunders (1959) a signalé que toutes les couleurs des graines, sauf le rouge, sont déterminées par l'action de gènes complémentaires impliquant deux ou plusieurs gènes qui sont non liés. Les graines à tégument blanc présentent une pigmentation intense autour du hile (Padi, 2003).

La couleur n'est pas répartie uniformément sur la graine ; elle concerne la zone de l'œil qui entoure le hile. La forme de l'œil est contrôlée par plusieurs gènes qui déterminent aussi la répartition de la pigmentation mauve sur la fleur (Fery, 1985 ; Drabo *et al.*, 1988). La nature du tégument est également une caractéristique importante de la graine. On trouve, en effet, deux types de tégument, l'un épais, lisse et plus ou moins brillant et l'autre mince, ridé et mat. Ces deux types semblent être déterminés par au moins deux gènes et le phénotype à tégument lisse est dominant (Fery, 1985).

Kehinde et Ayo-Vaughan (1999) et Singh et Ishiyaku (2000) ont rapporté l'hérédité de la texture du tégument de la graine chez le niébé et évoquent la participation de deux paires de gènes pour ce caractère. La texture ridée du tégument est un caractère important en Afrique de l'ouest et Central car elle facilite l'élimination de la couche des graines pour certaines préparations alimentaires.

5. ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE

La diversité génétique des espèces cultivées constitue la matière première indispensable pour l'amélioration des plantes (Baudoin *et al.*, 2002). La diversité génétique des espèces végétales a été générée au fil du temps sous la pression combinée de l'environnement, puis de l'homme depuis les débuts de la domestication (Mhiri et Grandbastien, 2004). Les cultivars anciens sont généralement très diversifiés. Ils résultent de sélection empirique locale (landrace) et constituent la part la plus importante de la variabilité génétique directement utilisable pour la sélection.

L'estimation de la variabilité génétique est indispensable pour la gestion, la conservation (*in situ* et *ex situ*) et l'utilisation efficaces des ressources phytogénétiques (Djé *et al.*, 2000). La diversité peut être évaluée par l'utilisation des marqueurs morphologiques (à travers les descripteurs) et génétiques (à travers des techniques biochimiques ou moléculaires).

5.1. LES MARQUEURS MORPHOLOGIQUES ET AGRONOMIQUES

Traditionnellement, la diversité génétique est évaluée en mesurant la variation de traits phénotypiques (la couleur et la forme de la graine, la couleur de la fleur, l'habitude de croissance, etc.) ou des traits agronomiques quantitatifs (le rendement, la tolérance au stress, etc.).

Les caractères morphologiques sont aisés à évaluer, mais leur utilisation dans les études génétiques est limitée, du fait que les caractéristiques morphologiques

phénotypiques sont généralement déterminées par plusieurs gènes, et que les facteurs quantitatifs sont fortement influencés par le milieu.

Par conséquent, on ne parvient pas à distinguer la contribution respective des différents gènes, et les différences génétiques précises entre individus ne sont pas décelables.

Le nombre de marqueurs morphologiques est très limité. Ils sont généralement dominants, rendant impossible la distinction entre individus homozygotes et hétérozygotes (Lefebvre et Chèvre, 1995; Kumar, 1999). Enfin, les caractères morphologiques monogéniques ne peuvent être utilisés comme marqueurs génétiques que si leur expression est reproductible sous différents environnements (Staub *et al.*, 1996).

5.2. LES MARQUEURS BIOCHIMIQUES

Les marqueurs biochimiques sont des protéines produites par l'expression de gènes et qui peuvent être séparées par électrophorèse afin d'en identifier les allèles. Les marqueurs les plus communément utilisés sont les isoenzymes (Vodenicharova, 1989). Les isoenzymes présentent un polymorphisme basé sur les différentes formes d'une enzyme. Généralement codominants, ils sont le produit de différents allèles d'un ou de plusieurs gènes. Les isoenzymes ont un faible niveau de polymorphisme et dépendent souvent du stade de développement physiologique de la plante (Tanksley et Orton, 1983).

Les études isoenzymatiques les plus récentes conduites sur le niébé ont porté sur l'évaluation de la diversité génétique intra et inter spécifique des formes cultivées et des formes sauvages (Panella et Gepts, 1992 ; Pasquet, 1993b ; Vaillencourt *et al.*, 1993 ; Sonnante *et al.*, 1996 ; Pasquet, 1999 ; Pasquet, 2000 ; Reis et Frederico, 2001) ainsi que sur les relations phylogénétiques entre les sous espèces (Panella et Gepts, 1992 ; Pasquet, 1993b ; Pasquet, 1999).

5.3. LES MARQUEURS MOLÉCULAIRES

5.3.1. Généralités

Contrairement aux marqueurs morphologiques et biochimiques, les marqueurs moléculaires ne sont pas influencés par les fluctuations de l'environnement et sont indépendants de l'organe analysé et du stade de développement de la plante (Tagu et Moussard, 2003).

Ces marqueurs moléculaires deviennent aujourd'hui un outil essentiel d'amélioration des plantes et ouvrent de nouvelles perspectives pour le sélectionneur. Ils sont utilisés pour étudier la variabilité et la diversité directement sur l'ADN plutôt que sur des caractères qui sont soumis à l'environnement. On étudie la diversité à sa base plutôt que sur les produits de son expression. Ils sont donc moins subjectifs (Rieseberg et Ellstrand, 1993). Chaque marqueur possède des qualités mais aussi des inconvénients. Il faut donc bien estimer le pour et le contre et en tenir compte pour l'analyse et l'interprétation des résultats. Tous les marqueurs n'apportent pas la même information.

Les avantages de ces marqueurs sur les marqueurs morphologiques et biochimiques sont nombreux : ils sont en grand nombre avec un niveau de polymorphisme élevé, ils sont neutres, reproductibles et ils offrent la possibilité de l'automatisation (Kermer, 1998).

De plus, contrairement aux autres marqueurs, les marqueurs moléculaires ont un développement stable, ils sont détectables dans tous les tissus et à tous les stades de

développement, ils ne sont pas influencés pas les conditions environnementales (Santoni *et al.*, 2000).

Chaque type de marqueurs diffère par ses qualités. Le tableau 1 présente les caractéristiques des différents marqueurs moléculaires. Ces marqueurs doivent être soigneusement choisis en fonction des objectives d'une étude.

Tableau 1 : Comparaison de différents marqueurs moléculaires utilisés en génétique des populations

Caractéristiques	RAPD	SSR	ISSR	AFLP
Abondance génomique	Élevée	Élevée	Moyenne- Élevée	Élevée
Niveau de polymorphisme	Moyen	Élevé	Moyen	Moyen
Spécificité du locus	Non	Oui	Non	Non
Codominance des allèles	Non	Oui	Non	Non/Oui
Reproductibilité	Basse	Élevée	Moyenne- Élevée	Moyenne - Élevée
Intensité de travail	Bas	Bas	Bas	Moyen
Demandes techniques	Basse	Basse- Moyenne	Basse- Moyenne	Moyenne
Coûts opérationnels	Bas	Bas	Bas- Moyen	Moyen
Coûts de développement	Bas-Moyen	Elevé	Bas	Bas
Quantité d'ADN requise	Basse	Basse	Basse	Moyenne
Prédisposition à l'automatisation	Oui	Oui	Oui	Oui

Source : Spooner *et al.*, 2005.

5.3.2. Les marqueurs moléculaires appliqués au *Vigna*

Les techniques basées sur la PCR (réaction de polymérisation en chaîne) telles que la RAPD (Random Amplified of Polymorphic DNA) (Karuppanapandian *et al.*, 2006 ; Fall *et al.*, 2003 ; Diouf et Hilu , 2005; Dikshit *et al.*, 2007 ; Tosti et Negri, 2002 ; Sharawy et El-Fiky, 2002; Nkongolo, 2003 ; Ouédraogo *et al.*, 2002 ; Ba *et al.*, 2004; Sarutayophat *et al.*, 2007 ; Menendez *et al.*, 1997), l'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism,) (Tosti et Negri, 2002 ; Coulibaly *et al.*, 2002 ; Ouédraogo *et al.*, 2002; Menendez *et al.*, 1997 ; Fatokun *et al.*, 1997; Gillaspie *et al.*, 2005), es microsatellites SSR (Simple Sequence Repeat) (Diouf et Hilu , 2005 ; Dikshit *et al.*, 2007 ; Cheng-Dao *et al.*, 2001 ; Gillaspie *et al.*, 2005), les ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) (Ajibade *et al.*, 2000) et les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (Ouédraogo *et al.*, 2002 ; Fatokun *et al.*, 1993) ont montré leur intérêt dans les études de la diversité génétique du niébé.

Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires qui, selon des critères génétiques, peuvent être séparés en deux grands groupes : les marqueurs codominants et les marqueurs dominants.

5.3.2.1. Les marqueurs codominants

Les marqueurs codominants sont des marqueurs spécifiques de locus. Les plus largement utilisées dans le domaine végétal sont les marqueurs RFLP et les microsatellites (SSR).

5.3.2.1.1. Les marqueurs RFLP

La technique RFLP développée par Botstein *et al.*, (1980) consiste à digérer l'ADN génomique total avec une enzyme de restriction. Les fragments obtenus sont alors sondés avec des fragments spécifiques d'ADN par les techniques de southern blotting et d'hybridation. C'est une technique qui demande d'utiliser de la radioactivité (sondes).

Une variante de cette technique la PCR-RFLP, est de plus en plus exploitée. Comme son nom l'indique, cette méthode combine les caractéristiques de la PCR et de la RFLP. Son principe est d'effectuer l'amplification de l'ADN avec des amorces en PCR avant de réaliser la digestion des enzymes.

5.3.2.1.2. Les microsatellites ou SSRs

Des amorces spécifiques sont utilisées pour amplifier des motifs hypervariables répétés dans l'ADN (Weber et May, 1989). C'est une technique qui peut marquer de manière univoque des allèles à simple locus. Mais elle demande des investigations et un travail de développement très important pour toute nouvelle espèce. Leur utilisation requiert une seule PCR suivie d'une électrophorèse sur un gel de polyacrylamide à haute résolution. Les microsatellites sont d'un grand intérêt en génétique du fait de leur polymorphisme extrêmement élevé, de leur codominance et de la simplicité de leur protocole (Morgante et Olivieri, 1993).

5.3.2.2. Les marqueurs dominants

Les marqueurs dominants sont des marqueurs révélés en masse, c'est-à-dire qu'ils révèlent, presque toujours, simultanément plusieurs locus.

5.3.2.2.1. Les marqueurs AFLP

C'est une technique mixte (Vos *et al.*, 1995) proche de la RAPD mais avec laquelle l'ADN est d'abord digéré par une enzyme de restriction avant d'être amplifié avec des amorces PCR. Cette technique demande néanmoins une haute technicité matérielle. Ces marqueurs nécessitent plus de technicité que les marqueurs RAPD mais sont plus polymorphes, plus robustes et plus reproductibles (Santonib *et al.*, 2000).

5.3.2.2.2. Les marqueurs RAPD

Les marqueurs RAPD sont des marqueurs dominants qui requièrent une seule PCR suivie d'une électrophorèse sur un gel d'agarose. La technique RAPD est l'une des méthodes les plus commodes pour identifier le polymorphisme génétique d'organismes vivants (Santoni *et al.*, 2000). Elle a été développée de manière indépendante en 1990 par Williams *et al.* et Welsh et McClelland (Breyne *et al.*, 1997). Elle utilise le principe général de la PCR avec des amorces de petite taille (10 bp) choisies aléatoirement qui amplifient de manière aléatoire l'ADN génomique (Karp *et al.*, 1998). Selon la séquence du génome, ces amorces vont s'hybrider à des endroits différents du génome. Après amplification, il en résulte l'obtention d'un patron de fragments différents qui peut être mis en évidence par séparation électrophorétique en gel d'agarose. (Karp *et al.*, 1998). Une amplification RAPD fournit entre 5 et 20 bandes (Breyne *et al.*, 1997) qui peuvent servir de marqueurs.

La puissance de la technique RAPD réside dans sa rapidité et le fait qu'elle ne nécessite pas une connaissance préalable des séquences du génome (Hallden *et al.*, 1996). De plus, ces marqueurs ont un coût peu élevé et sont d'un faible niveau de technicité. Leur utilisation à grande échelle est toutefois limitée par leur nature dominante et les difficultés liées à leur reproduction (Staub *et al.*, 1996). En effet, les produits d'amplification obtenus dépendent

beaucoup des conditions de la PCR et du type de thermocycleur utilisé (Penner *et al.*, 1993). Le risque de contamination et d'amplification de l'ADN contaminant est relativement élevé, puisque cette technique amplifie de faibles quantités d'ADN (Hadrys *et al.*, 1992). Les résultats d'amplification peuvent être difficilement reproductibles d'un laboratoire à un autre, la RAPD est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification.

Le respect des conditions de manipulation (l'utilisation de gants, d'eau distillée autoclavée, l'aliquotage des produits, la séparation des laboratoires et des pipettes pré- et post-PCR) tout au long des expérimentations ainsi que le test de reproductibilité avec élimination des bandes (ou amorces) non répétables permettent de supprimer en partie ces inconvénients au sein d'une même série d'expérimentations.

5.3.2.2.3. Les marqueurs ISSR

Les marqueurs moléculaires de type ISSR (Zietkiewicz *et al.*, 1994) permettent l'amplification par réaction de polymérase en chaîne (PCR) de fragments d'ADN situés entre les loci microsatellites (Fernandez *et al.*, 2002 ; Iruela *et al.*, 2002 ; Falque et Santoni, 2004). Dans cette technique les microsatellites sont utilisés comme cible de l'amorce pour amplifier principalement la région ; se situant entre ceux-ci (Pradeep Reddy *et al.*, 2002). Les microsatellites sont des régions d'ADN répété, le motif répété varie de 2 à 10 pb et les individus peuvent varier par le nombre de répétitions présentes à un locus donné. L'amplification de l'ADN génomique est effectuée avec des amorces constituées d'un motif répété nucléotidique, de type microsatellite, associé à des bases définies au hasard et placées en 3' ou en 5'. Dans des conditions d'amplification adaptées, la technique ISSR permet de produire plusieurs dizaines de produits qui sont visualisés soit sur des gels d'agarose soit sur des gels d'acrylamide (Falque et Santoni, 2004).

La technique ISSR génère des marqueurs dominants, ce qui limite leur informativité sur des génotypes hétérozygotes (Falque et Santoni, 2004). C'est une méthode relativement simple au niveau technique (Liu et Wendel, 2001 ; Bornet et Branchart, 2001). Elle permet de combiner l'intérêt d'une technique multi-locus (données de type présence/absence) avec un niveau de polymorphisme très élevé (de type microsatellite). Cette technique est donc intéressante sur des espèces faiblement polymorphes et permet de distinguer des variétés génétiquement très proches (Prevost et Wilkinson, 1999 ; Fang et Roose, 1997 ; Nybom, 2004). Théoriquement, le polymorphisme révélé par ISSR devrait être élevé et facile à détecter étant donné les régions très variables du génome ciblées (McGregor *et al.*, 1999). La technique est plus fiable et reproductible que la RAPD (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Cette reproductibilité élevée des ISSR est due à la longueur des amorces (16-25 paires de base) (Pradeep Reddy *et al.*, 2002). En termes économiques, le coût de développement des amorces ISSR est faible (Spooner *et al.*, 2005) puisque la technique est rapide et efficace et aucune information préalable n'est nécessaire quant au génome ciblé (Goodwin *et al.*, 1997 ; Prevost et Wilkinson, 1999 ; Nybom, 2004). La technique nécessite de faibles quantités d'ADN (Spooner *et al.*, 2005). La technique ISSR s'est avérée être une méthode fiable et adaptée pour l'étude de la diversité génétique de nombreuses espèces (Bornet *et al.*, 2002).

CHAPITRE 2 : PROSPECTION ET COLLECTE DES ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ CULTIVÉS EN ALGÉRIE ET ENQUÊTE SUR LES SAVOIR FAIRE TRADITIONNELS QUI LEURS SONT LIÉS

1. INTRODUCTION

En Algérie, des écotypes de niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp) ont été maintenus dans les régions les plus reculées (montagnes de Kabylie, oasis du Sahara, le littoral d'El Kala...). Cette espèce est utilisée dans l'art culinaire traditionnel de certaines régions où on lui attribue parfois des vertus thérapeutiques. Elle n'est plus cultivée que sur des superficies très restreintes, relevant souvent du jardinage ; ce qui peut causer à long terme son extinction et par conséquent sa disparition totale. Les fermiers pratiquant la culture traditionnelle du niébé, que ce soit par choix ou par nécessité, ont conservé et développé cette ressource en préservant les écotypes locaux et le savoir-faire local associé.

Les écotypes locaux de niébé, probablement introduits à partir de l'Afrique de l'Est (Centre d'origine de cette espèce) ont été maintenus pendant plusieurs siècles dans des conditions écologiques différentes, ce qui leur a permis d'accumuler une importante diversité génétique encore très peu étudiée.

Malgré les efforts des chercheurs, cette ressource reste peu étudiée en Algérie et est encore sous-exploitée par les populations locales. La conservation et la valorisation de cette espèce est devenue urgente.

Notre étude vient autant soit peu, compléter les travaux précédents par l'élargissement des prospections dans les zones de cultures du niébé non encore prospectées (nord de l'Algérie : La Kabylie, El Kala et les Oasis du sud), par la collecte d'un maximum de la variabilité existante pour constituer une collection des écotypes cultivés en Algérie et par l'étude des savoir-faire traditionnels liés à cette culture.

Avant de procéder à la caractérisation agro-morphologique (sur le terrain) et moléculaire (au laboratoire) des différentes formes de niébé rencontrées lors des prospections, une caractérisation préliminaire des graines collectées, nous a semblé utile pour évaluer la diversité existante en Algérie suivant l'origine géographique.

Dans le but de recueillir un maximum d'informations sur les ressources locales du niébé et les savoir-faire ancestraux qui leurs sont liés, des enquêtes ethnobotaniques et agronomiques ont été menées dans trois régions de référence de culture de cette espèce à savoir : Tizi-Ouzou (Kabylie), Djanet (Tassili N'Ajjer) et le Tidikelt. Ces enquêtes semblent nécessaires pour déterminer la situation actuelle de la diversité phylogénétique du niébé local et des pratiques culturelles traditionnelles des paysans.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. PROSPECTION ET COLLECTE

À partir des informations recueillis lors d'enquêtes préliminaires établies auprès des autorités agricoles des différentes régions, les sites de culture de niébé en Algérie ont pu être identifiés et plusieurs sites de culture traditionnelle de cette espèce ont été localisés à travers le pays (figure 1A).

Afin de collecter la variabilité existante, plusieurs missions de prospection et de collecte se sont déroulées à travers ces régions caractérisées par une grande diversité agro-écologique ; un total de 66 sites a été prospecté et 121 accessions collectées (tableau 2).

Des missions de collecte ont été programmées en août et en octobre 2003 dans la région d'El Kala, en octobre 2003 dans la région du Touat, en avril 2004 dans la région du Gourara et la vallée du M'zab, en juin 2004 dans la région de Béjaia, en septembre 2004 dans la région de Tizi-Ouzou, en février 2005 dans la région de Béchar, en avril 2005 dans la région de Djanet et en mars 2006 dans la région de Tidikelt.

Tableau 2 : Caractéristiques du lieu d'origine des écotypes locaux de niébé collectés en Algérie.

Régions	Sites prospectés	Accessions	Origine géographique	Climat
Tizi-ouzou (Kabylie)	19	35	<i>Littoral et Sub-littoral</i>	<i>Sub-Humide</i>
Béjaia (Kabylie)	4	8	<i>Littoral et Sub-littoral</i>	<i>Sub-Humide</i>
El Kala	8	11	<i>Littoral</i>	<i>Humide</i>
Ghardaia	2	3	<i>Sahara Septentrional</i>	<i>Aride</i>
El Goléa	2	4	<i>Sahara Septentrional</i>	<i>Aride</i>
Touat	5	11	<i>Sahara Central</i>	<i>Aride</i>
Gourara	6	10	<i>Sahara Central</i>	<i>Aride</i>
Tidikelt	7	11	<i>Sahara Central</i>	<i>Aride</i>
La Saoura (Béchar)	8	18	<i>Sahara Central</i>	<i>Aride</i>
Djanet	5	10	<i>Sahara Central</i>	<i>Aride</i>

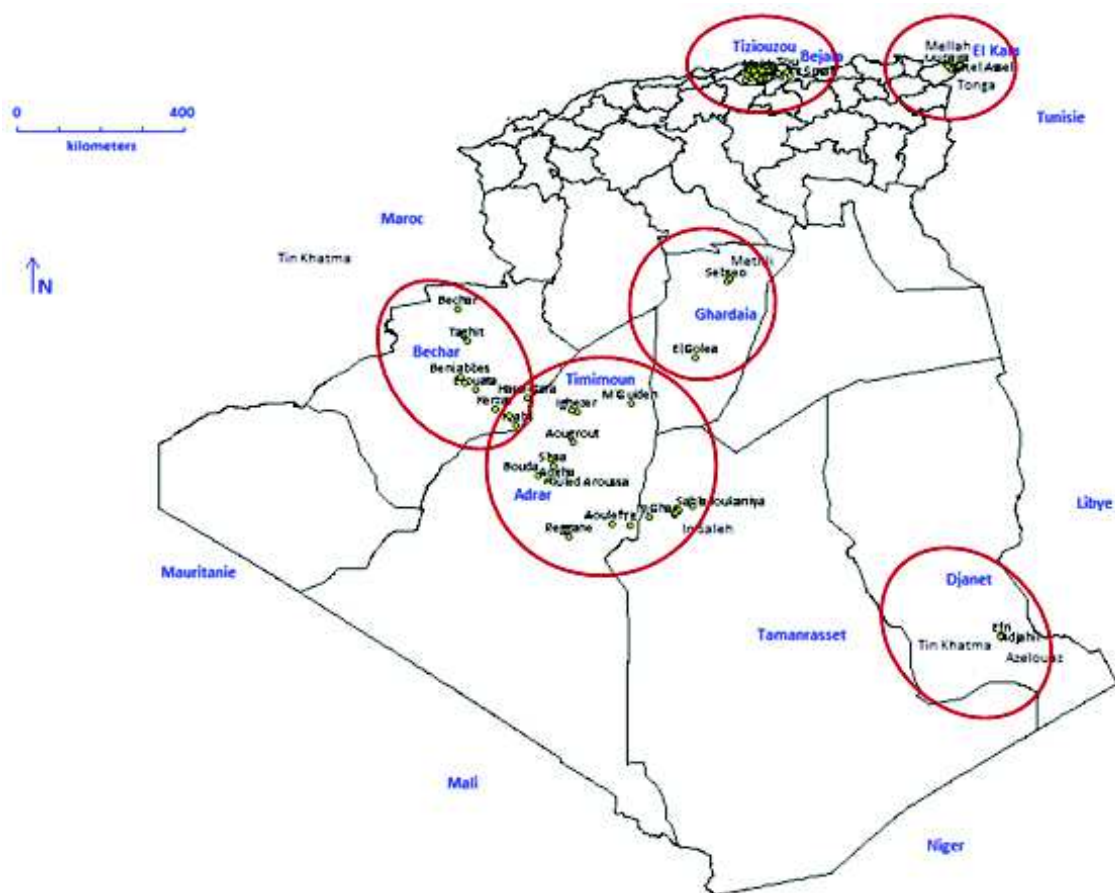


Figure 1A : Carte représentant les zones de la culture traditionnelle du niébé en Algérie

2.1.1. Présentation des zones de prospection

2.1.1.1. Le Nord de l'Algérie

2.1.1.1.1. La Kabylie

La Kabylie est une région historique et ethnolinguistique située dans le nord de l'Algérie, à l'est d'Alger. Pays de montagnes densément peuplées, entouré de plaines littorales à l'ouest et à l'est, au nord par la Méditerranée et au sud par les Hauts Plateaux (Hanoteau et Letourneux, 2003). La Kabylie a été scindée en deux selon l'altitude. La Grande Kabylie ou Haute Kabylie (région de Tizi-Ouzou) et la petite Kabylie ou Basse Kabylie (région de Béjaia).

A- La Grande Kabylie

La Grande Kabylie, dont la ville principale est Tizi-Ouzou, est limitée au sud par l'imposant massif du Djurdjura qui domine la vallée de la Soummam, qui la sépare de la Petite Kabylie. Cette région est caractérisée par un climat méditerranéen, avec un été chaud qui s'étend de la mi-mai jusqu'à la mi-septembre et un hiver rigoureux et froid (Seltzer, 1946). La pluviométrie moyenne de la région est de 700 mm/an, l'hiver reçoit presque la moitié des précipitations annuelles, le maximum s'observe durant le mois de décembre et le minimum pendant les mois d'été (juillet-août). La neige peut être abondante sur le Djurdjura et l'extrémité orientale du massif central. Quelques nuances dues à l'altitude viennent parfois corriger le schéma général avec la présence de nombreux microclimats. La Kabylie est connue par ses cultures de montagne (surtout l'arboriculture et les cultures annuelles).

La grande Kabylie peut être divisée selon sa géographie en 4 zones (DSA, 2003) :

Zone 1

Cette zone composée de vallées et plaines dont la pente est inférieure à 3% présente une nature du sol à prédominance limono-sableuse et une pluviométrie supérieure à 600 mm par an. Elle longe l'oued Sebaou de Boubehir jusqu'à Tadmait et comprend également les périmètres irrigués de Djebba, de Drâa-El-Mizan et la petite plaine côtière d'Azeffoun. La majorité des ressources hydrauliques (nappes phréatiques et barrages) sont situées dans cette zone, ce qui la prédispose à une agriculture intensive (arboriculture, élevage, maraîchage) en raison de ses potentialités agro-pédologiques.

Zone 2

C'est la zone des bas piémonts. Les caractéristiques de cette zone s'apparentent à la précédente avec cependant une pente des terrains comprise entre 3 % et 12, 5%. Une partie se trouvant juxtaposée à la zone 1 longeant l'Oued Sebaou est localisée dans les communes d'Azazga, Freha, Ouaguenoun, Aït-Aïssa-Mimoun, Sidi-Naamane, Makouda, Boghni, Ouadhias, Irdjen, et Tizi-Rached. La nature des sols est argileuse avec une pluviométrie supérieure à 600 mm par an. C'est une zone prédisposée aux cultures de la vigne, des légumes secs et à l'arboriculture.

Zone 3

C'est la zone des hauts piémonts, elle englobe des terres présentant une pente comprise entre 12,5 % et 25 %. Cette zone touche essentiellement la montagne côtière (de Mizrana à Aït-Chafaa). On y pratique généralement une agriculture de subsistance vivrière c'est à dire une polyculture fréquemment associée à l'élevage et dont toute une partie est destinée à la consommation familiale.

Zone 4

C'est la zone des massifs montagneux de l'intérieur où la pente des terrains est supérieure à 25 %. Elle est constituée par des sols pauvres et les cultures rencontrées sont l'arboriculture dite rustique (olivier et figuier).

Aux quatre zones physiques homogènes distinguées, il y a lieu d'ajouter la zone des forêts qui englobe toute la frange est de la Wilaya : Zekri, sud d'Aït-Chafaa, Akerrou, Yakourène, Bouzeguene, Ifigha, et Irdjen. Les spéculations dominantes sont l'arboriculture rustique et l'élevage.

B- La petite Kabylie

La Petite Kabylie, dominée par le djebel Babor, est moins élevée et plus ouverte sur la mer. Elle est caractérisée par une moyenne de 670 à 1000 mm de pluies par an. Les températures sont adoucies sur le littoral (hiver doux, été chaud) un peu moins dans la vallée

de la Soummam. La zone de montagne voit au contraire des gelées fréquentes. Les vents dominants sont les vents du nord-ouest (vents marins qui s'engouffrent facilement dans la vallée de la Soummam). Le littoral n'est pas à l'abri du Sirocco (Seltzer, 1946).

Dans cette région on peut distinguer :

La zone côtière : Cette zone s'étend de l'oued Soummam à l'oued Agrioun soit une trentaine de km environ. Cette bande côtière, retardée au niveau des villages de Tichy et d'Aokas, est principalement composée de terre sablonneuse du fait de la pression maritime proche (Hanoteau et Letourneux, 2003).

La vallée de la Soummam : serrée entre l'ensemble Akfadou - Gouraya au nord et la chaîne des Bibans au sud. Les versants, particulièrement au sud, ont des pentes relativement douces. Cette zone possède de vastes espaces propres à des cultures riches telles que le maraîchage et l'arboriculture fruitière (Hanoteau et Letourneux, 2003).

La zone de montagne : Constituée de la chaîne des Bibans Babors et de l'ensemble Akfadou - Gouraya, elle présente des pentes supérieures à 25 %. Les sols en majorité siliceux sont érodés (Hanoteau et Letourneux, 2003).

2.1.1.1.2. El Kala

El Kala appartient à la partie nord-est du Tell Algérien, elle est limitée au nord par la Méditerranée, à l'est par la frontière algéro-tunisienne, au sud par les monts de la Medjerda et à l'ouest par la ville d'El -Tarf et par les marais de la Mekkada.

Le caractère exceptionnel d'El Kala réside dans sa réserve naturelle théoriquement protégée. Créé en 1983, Le Parc National s'étend sur une superficie de 76438 ha. Il est composé d'une mosaïque d'écosystèmes forestiers, lacustres, dunaires et marins, lui conférant une haute valeur biologique et écologique dans le bassin méditerranéen. Sa flore, sa faune et son patrimoine culturel lui ont valu son inscription en tant que réserve de la Biosphère par l'UNESCO en 1990. Le parc d'El Kala renferme deux zones humides d'importance internationale qui sont les lacs Oubeïra, Tonga et le lac des oiseaux (Homewood, 1993).

El-Kala bénéficie d'une forte pluviométrie qui fait d'elle une des régions les plus arrosées d'Algérie, se situant dans l'étage bioclimatique Sub-humide chaud, le minimum absolu observé a lieu en décembre avec 6°C et le maximum en août avec 39°C. La région, particulièrement sa partie lacustre, bénéficie d'une forte pluviométrie et reçoit une moyenne annuelle de 910 mm, avec un maximum de 1300 mm. Le régime pluviométrique se caractérise par des pluies abondantes en hiver qui diminuent presque régulièrement au printemps et atteignent quelques millimètres par mois pendant la période d'été (Boumazbeur, 1993). La partie est (El-kala et Ain El-Assel) est plus humide et pluvieuse que la partie ouest. Le niveau moyen des précipitations atteint 800 mm et 700 mm respectivement (Boumazbeur, 1993). Les vents dominants, ceux du nord-ouest, avec une vitesse moyenne variant de 3,3 à 4,8 m/s, apportent les précipitations les plus importantes venues de l'atlantique (Joleaud, 1936). A l'opposé, le Sirocco souffle principalement en été venant du sud-est, assèche l'atmosphère et favorise, avec les températures élevées, les incendies de forêts. L'évapotranspiration relative et potentielle moyenne est respectivement de 600 à 640 mm/an et 889 mm/an (Boumazbeur, 1993).

Dans la région d'El Kala, le degré d'hygrométrie est très élevé et presque constant tout au long de l'année. La mer, les nombreux plans d'eau ainsi que la richesse de la région en écosystèmes forestiers (zones montagneuses) contribuent au maintien d'une humidité

élevée pendant toute l'année (Boumazbeur, 1993). Cette humidité de l'air, élevée même en période estivale, explique que la région puisse être plongée dans un voile de brume ; ce dernier est propice, aux cultures d'été et à la végétation naturelle : véritable compensation pour les végétaux ne bénéficiant d'aucune précipitation durant l'été (De Belair, 1990).

Le pH est légèrement acide, les profils sont à dominance de sables fins associés à des limons grossiers ou à des argiles, parfois aussi à des limons fins. Les sables grossiers sont très peu représentés au niveau des profils. De manière générale, la texture est sablonneuse à sablon- limoneuse (Joleaud, 1936).

La région est incontestablement à vocation agricole. Les cultures sont nettement dominées par le maraîchage et l'arachide, pratiquées aux abords des sources d'eau facilement accessibles comme les oueds et les lacs. Dans les zones montagneuses, la céréaliculture est pratiquée sur les piémonts. Dans les zones inondables et tout autour sont pratiquées les cultures fourragères et les cultures industrielles comme la tomate et le tabac. La jachère généralement associée à l'élevage devient également une pratique courante qui prend de l'extension au niveau des forêts, des plaines et dépressions dunaires. Le niébé est cultivé en association avec l'arachide, dans les jardins familiaux pour l'autoconsommation. Les semences locales sont transmises de génération en génération sous forme d'un héritage familial.

2.1.1.2. Les oasis du sud-ouest (Gourara, Touat, Tidikelt et la Saoura) et sud central (El Goléa)

2.1.1.2.1. Présentation des oasis du sud-ouest et du sud-central

A- L'oasis d'El Goléa

El Goléa (actuellement appelée El Ménia) est une grande oasis dans le Sahara Algérien. Elle est située au sud-ouest de la Wilaya de Ghardaïa à la limite de la Wilaya de Adrar. El Goléa s'élève à 370 m au-dessus du niveau de la mer. À l'est, on trouve le Grand Erg Oriental. À l'ouest de cette grande palmeraie le Grand Erg Occidental contourné par une multitude d'oasis forment une boucle.

B- Les oasis du Touat

Les oasis du Touat s'étirent sur environ 200 km entre le plateau du Tademaït au nord-est et l'erg Chech au sud-ouest. La population, mêle Arabo-berbères et descendants d'esclaves noirs et témoigne des brassages qui ont eu lieu au cours des siècles. Le Touat a en effet, constitué l'un des pôles majeurs du commerce transsaharien et l'une des régions les plus prospères du Sahara occidental. La région du Touat fut un véritable trait d'union entre les régions du nord et du sud en général et entre le grand Maghreb et les pays dit du « Soudan », autrement dit l'Afrique subsaharienne.

C- Les oasis du Gourara

Le Gourara, dont la capitale est Timimoune, est une région formée d'un ensemble d'oasis, cernée par le grand Erg Occidental (au nord), le Touat et la Saoura (à l'ouest) et le plateau de Tadmait (au sud et à l'est), immense étendue plate et pierreuse qui la sépare du Tidikelt. Dans les oasis, le berbère Zénète est toujours utilisé par ses habitants. Le Touat-Gourara correspond à un couloir formant un espace d'aspect désertique qui abrite, cependant, un chapelet d'oasis et de vieux ksours, alignés selon une disposition nord-est sud-est, en arc de cercle, à la périphérie sud du grand erg occidental. C'est surtout dans

cette région, que l'installation de l'homme et les activités agricoles se sont relativement développées.

D- Les oasis du Tidikelt

La vaste plaine du Tidikelt, formée d'immenses regs plats, sépare le plateau de Tadmait au nord, de la région de l'Ahaggar au sud. Le nom Tidikelt, signifie en berbère (endroit vaste). Le Tidikelt se trouve au sud-est de Touat, ce sont des oasis, qui se partagent en deux groupes, ceux des Oulad zenar et d'In salah. Au nord de la région se trouve le grand erg d'ouest et à son sud se trouve le plateau de Tanezrouft Tidikelt. Le Tidikelt constitue la région nord du Parc National de l'Ahaggar (principalement situé dans la Wilaya de Tamanrasset).

E- Les oasis de la Saoura

Grande vallée façonnée par l'oued portant le même nom, la Saoura est limitée au nord par les Monts des Ksour et le Haut Atlas marocain, à l'ouest par la Hamada du Draa, à l'est par les oasis du Tidikelt et au sud par le plateau du Tanezrouft. Béchar est la plus grande ville à l'ouest du Sahara et le centre administratif de la Saoura. Elle est située à 80 km de la frontière marocaine, à 1150 km d'Alger.

2.1.1.2.2. Le climat, le sol et la vocation agricole des oasis du sud-ouest et sud-central

Les oasis du Sahara sont caractérisées par un climat contrasté avec une saison chaude et sèche, des amplitudes thermiques importantes et des vents fréquents et intenses. La pluviométrie est quasiment nulle avec une répartition irrégulière, rendant impossible toute agriculture sans irrigation (Seltzer, 1946). Ces régions sont caractérisées également par des températures diurnes très élevées en été, notamment à Adrar, In Salah et des températures basses en hiver (gelées durant les mois de décembre à mi-février). Les mois de Juin, juillet et août sont les mois les plus chauds des zones septentrionales et centrales. Les plus hautes températures ont été observées à In Salah avec 56°C. En hiver, il gèle presque partout. Les températures les plus basses enregistrées atteignent - 6°C à Béchar et à Béni-Abbès. L'amplitude des variations thermiques annuelles, peut dépasser 55°C au Sahara. En outre, l'amplitude quotidienne, c'est-à-dire la différence entre le maximum diurne et le minimum nocturne, dépasse souvent 35°C (Ozenda, 1991). Le vent est orienté nord-ouest en hiver sud-ouest en été, souvent violent, occasionnant des tempêtes de sable au centre du Sahara (Dubief, 1959).

De par son caractère très aride, le climat saharien influe sur la pédogenèse par la forte évaporation et par le vent. Cette évaporation intense permet des accumulations salines ou gypseuses existant dans certains types de sols (Dubief, 1963). Les sols dans le Sahara sont généralement formés d'aires constituées de couches sédimentaires superficielles dont la fertilité et le pouvoir de rétention en eau et en éléments fertilisants est faible et dont les horizons de surface sont très sensibles à l'érosion éolienne (Allal- Benfkih, 2006). La formation et l'évolution de ces sols restent conditionnées par le climat et la salinité. Sans mise en valeur, sans apports fréquents d'éléments fertilisants et surtout sans irrigation, il n'est donc point possible de cultiver dans une telle zone (Allal- Benfkih, 2006).

L'extension des cultures au Sahara étant fonction des possibilités d'irrigation, l'étendue des surfaces cultivées est nécessairement très réduite (Ozenda, 1991). La plus grande partie des oasis est constitué de petits jardins privés d'une agriculture vivrière familiale qui abrite une importante diversité de cultivars. La culture dominante est le palmier dattier associée à des cultures fruitières ou maraîchères. Une dizaine d'espèces d'arbres se rencontrent dans les oasis, dont le plus important est l'abricotier. Viennent ensuite, le figuier,

le grenadier, l'olivier cultivé dans les oasis du nord, les orangers, citronniers, caroubiers et enfin la vigne, encore plantée dans la partie septentrionale. Le blé, l'orge, le sorgho représenté par plusieurs variétés, ainsi que le mil sont cultivés un peu partout dans le Sahara central et méridional (Ozenda, 1991).

Les plantes potagères comme la fève, le pois et dans une moindre mesure la lentille et le pois chiche sont assez répandus. Les Cucurbitacées notamment la courge, le potiron, la pastèque et le melon fournissent une part importante des cultures potagères. L'ail est assez répandu. Des Ombellifères (cumin, fenouil, coriandre) sont cultivées comme condiments ainsi que les piments et le câprier. L'eau utilisée peut provenir des crues des oueds, des foggaras, des sources artésiennes ou des puits. Dans la périphérie des oasis, l'élevage des dromadaires et des chèvres est pratiqué en particulier sur les parcours plus riches des lits d'oued et des massifs montagneux du Sahara central (Hoggar, Tassili) (Ozenda, 1991).

2.1.1.3. Les oasis de Djanet (sud-est)

La région de Djanet est située à l'extrême sud-est de l'Algérie dans la région du Tassili n'Ajjer, dans la partie orientale du Sahara central ; elle est distante d'environ 2200 Km de la capitale Alger (Dubief, 1999). Elle est limitée par la frontière libyenne à l'est (200 Km), la frontière nigérienne au sud, la Wilaya de Tamenrasset au sud-ouest, la commune de Bordj El Haouès à l'ouest et la commune d'Illizi au nord.

Djanet est soumise à une légère influence des moussons tropicales. Sa situation géographique lui confère un climat agréable en comparaison avec celui du Sahara central et la soumet à des influences tropicales (Seltzer, 1946). Le climat aux Ajjer est plus tempéré que celui des régions de In Saleh et il paraît l'être d'autant plus que l'altitude est importante. Les minima y sont beaucoup moins accusés, et les maxima n'y atteignent même pas ceux d'un climat réputé tempéré (Leredde, 1957). Cependant, les représentations synthétiques des climats concordent pour classer le climat du Tassili N'Ajjer parmi les climats désertiques (Leredde, 1957). Dans cette région, les températures s'apparentent à celles d'un climat tempéré chaud avec une constance de température assez élevée pendant les mois d'été. Les températures sont régulières. En général, la moyenne des minima du mois le plus froid est de 6,2⁰C (janvier) et celle des maxima du mois le plus chaud est de 37,9⁰C (juin). Selon les variations mensuelles des températures, on distingue un hiver court (1 mois, janvier) et un été qui dure d'avril à octobre. De mai à août, la température moyenne demeure supérieure à 30⁰C. L'évaporation est légèrement atténuée à Djanet par rapport au Sahara, mais elle reste importante durant toute l'année. L'évaporation atteint le maximum durant les mois d'été, ceci est dû à la forte insolation connue durant cette période. Les pluies sont faibles et irrégulières à l'image de celles de toute la région du Sahara central.

L'humidité relative est très faible. Cependant, des pluies diluviennes peuvent aussi se produire dans cette région. Les vents sont plus fréquents le jour et en période chaude. La vitesse moyenne du vent varie de 0,9 m/s en décembre à 2,8m/s en juillet (Seltzer, 1946).

La couverture pédologique dans le lit de l'oued de Djanet est une accumulation de plusieurs couches d'alluvions, issues du drainage actuel et passé des bassins du plateau de Tassili oriental. En général, le sol se caractérise par une texture sableuse à sablo-limoneuse et une faible salinité (Ellies, 2004). En dehors de la roche nue, la majeure partie du terrain est constituée par du sable proprement dit. Les proportions plus importantes de limon et d'argile sont la conséquence d'une accumulation et d'une stagnation d'eau (Leredde, 1957).

Djanet est une oasis du désert saharien central, et la population locale est formée principalement des Touaregs Kel Ajjer sédentarisés. L'oasis de Djanet est relativement riche en eau permettant une exploitation de polyculture intensive. La palmeraie importante de 30 000 palmiers produit évidemment des dattes, mais aussi la plupart des légumes (pommes de terre, betteraves, tomates...) et des fruits (olives, agrumes...) nécessaires à l'économie locale. Djanet est également un carrefour routier où transitent des marchandises venant de Ghât dans le sud de la Libye et du Niger voisins (Lerredé, 1957).

2.1.2. Collecte et échantillonnage des graines

Les exploitations agricoles, quelle que soit leur taille, possèdent habituellement un jardin potager et un grenier ou un endroit de stockage des graines. Les lots de graines ont été collectés à partir du jardin ou du grenier en attribuant à chaque lot une fiche de renseignement. Généralement, des échantillons sont prélevés partout où la présence d'écotypes locaux de niébé est signalée, en évitant les zones de bordure.

En l'absence d'informations particulières sur les écotypes de niébé, la collecte des graines se pratique par un échantillonnage aléatoire ; c'est le cas le plus fréquent. Au champ, la plante à prospecter est ciblée au hasard et seulement une gousse apparemment saine est collectée.

L'échantillonnage a porté sur 40 plantes par écotype. Dans les sacs de stockage, le choix de 40 gousses ou de 400 graines par échantillon a été réalisé au hasard. Ces nombres ont été choisis sur la base des études réalisées par plusieurs auteurs qui ont préconisé, chez les espèces autogames à graines, l'échantillonnage de moins de cinquante plantes (Doebly, 1989 ; Singh, 2001; Kouakou *et al.*, 2007). Chaque prélèvement est suivi d'un entretien avec le paysan qui a fourni les échantillons. Les informations relatives aux noms du paysan, de la variété, à la localisation du village, à l'origine des semences, aux techniques culturales, aux attaques parasitaires et aux usages habituels liés au niébé sont recueillies pour chaque échantillon. Les graines collectées sont séchées et conservées en chambre froide (4°C).

2.1.3. Caractérisation morphologique des graines

Pour une caractérisation préliminaire des accessions collectées, des caractères qualitatifs et quantitatifs de la graine, couramment utilisés pour décrire les cultivars et les cultigrupes de niébé, ont été retenus. Il s'agit de la couleur, la forme, la texture et la longueur de la graine ainsi que la couleur de l'œil (qui est la zone, la plus souvent colorée, située autour du hile) de la graine et le poids de cent graines (tableau 3). Les mesures ont été réalisées sur 50 graines par accession.

2.1.4. Analyse statistique

Les données recueillies sont traitées par différentes méthodes d'analyse statistique. Des analyses multivariées sont réalisées avec le logiciel SAS (SAS 8 for windows, 2001). Une Analyse des Correspondances Multiples (ACM) est suivie d'une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). Pour l'ACM, des variables quantitatives ont été transformées en modalités pour les variables LG et PCG. L'analyse des correspondances multiples (ACM) est une méthode exploratoire elle vise à dégager des relations de ressemblance ou de différence intéressantes entre les variables et les individus. En principe, les plans factoriels en ACM permettent, grâce aux projetés simultanés des modalités et des individus, d'établir des relations de proximité entre individus et entre modalités. L'analyse des correspondances

multiples est une « généralisation » de l'analyse des correspondances (simples) permettant d'étudier plus de 2 variables qualitatives (Jalby, 2009).

Descripteurs
<i>Couleur de la graine (COG)</i> : 1 blanche, 2 crème, 3 beige-brune, 4 brune, 5 brune-ocre, 6 brune-olive, 7 holstein noire et blanche, 8 noire, 9 rouge, 10 tacheté beige.
<i>Couleur de l'œil (COE)</i> : 0 absente, 1 brune, 2 brune large, 3 noire.
<i>Forme (FG)</i> : 1 Réuniforme, 2 Ovoïde, 3 Arrondie, 4 globulaire, 5 Rhomboïde.
<i>Texture (TG)</i> : 1 lisse, 2 lisse à rugueux, 3 rugueux à ridé, 4 ridé.
<i>Poids de cent graines (mg) (PCG)</i> : poids de cent graines en g.
Classe 1: <7,92 g, Classe 2: 7,92-9,21 g, Classe 3: 9,21-10,68 g, Classe 4: 10,68-17,55 g, Classe 5: 17,55-25,66 g, Classe 6: >25,66g.
<i>Longueur de la graine (cm) (LG)</i> : mesuré sur des graines matures.
Classe 1: <7, mm, Classe 2: 7,1-8,6 mm, Classe 3: 8,6-9,9 mm, Classe 4: >9,9mm.

Tableau 3 : Principaux caractères morphologiques des graines de niébé collectées.

La CAH conduit à la construction d'un arbre de classification (ou dendrogramme) montrant le passage de n individus au groupe « total » par une succession de groupements. Elle organise les observations, définies par un certain nombre de variables et de modalités, en les regroupant de façon hiérarchique. La CAHa été faite à partir de la matrice des similarités sur la base du critère d'agrégation de Ward.

Pour chaque caractère, la distribution des fréquences ainsi que le coefficient de corrélation de Pearson ont été calculés par le logiciel XL-STAT-PRO version 7.5 (Fahmy, 1998).

Dans notre étude, chaque accession dispose des informations relatives à ses coordonnées géographiques (altitude, latitude et longitude). Ces informations ont permis d'élaborer les cartes de distribution géographique des échantillons, grâce au logiciel DIVA-GIS 2.4 (Hijmans *et al.*, 2002). Dans une première étape, les données des coordonnées géographiques (latitude et longitude) des sites de collecte des accessions ont été transformées en coordonnées décimales, en utilisant la formule suivante :

$DC = h \times (d+m/60+s/3600)$ Où : DC = Coordonnées Décimales ; h = 1 pour les hémisphères Nord et est, et -1 pour les hémisphères sud et ouest ; d = degrés (°) ; m = minutes (') ; s = secondes (")

En utilisant ces coordonnées décimales une carte de distribution géographique des accessions a été créée. De cette façon une analyse spatiale a été possible et les zones les plus échantillonnées ont été identifiées.

2.2. Enquête

Une enquête est réalisée auprès d'un échantillon d'agriculteurs bien répartis et représentatifs de l'ensemble des régions de culture traditionnelle du niébé en Algérie. Il s'agit d'identifier les paysans qui cultivent des variétés locales de niébé pour enquêter auprès d'eux sur leurs savoirs et savoir-faire.

L'étude a été réalisée dans trois régions de référence de la culture traditionnelle du niébé différenciables par leurs caractéristiques pédoclimatiques et humaines (figure 1B). Ce sont les régions de Tizi-Ouzou en Kabylie (2005), Djanet dans l'Ahaggar N'Ajjer (2006) et la région du Tidikelt (2007).

2.2.1. Collecte des données et échantillonnage

La méthode des enquêtes semi-structurées qui sont basées sur une liste de thèmes ou de questions préalablement définies a été utilisée. Un questionnaire a été élaboré en tenant compte des objectifs attendus de l'étude. Il concerne l'identification de l'agriculteur, les informations ethnobotaniques et agronomiques (date de semis, itinéraire technique,..) (annexe 1 A-B). Les informations recueillies sont synthétisées dans des fiches de dépouillement.

À l'intérieur de chaque région, le choix des sites d'enquête est effectué en concertation avec les agents locaux du service de vulgarisation du Ministère de l'Agriculture en identifiant les paysans qui continuent à cultiver le niébé dans chaque région. Un certain nombre de paysans a été sélectionné de façon aléatoire afin de rencontrer des situations de production représentatives de la situation existante. La méthode d'échantillonnage utilisée est celle à deux ou plusieurs degrés de niveaux, aussi appelé échantillonnage en grappe.

Des enquêtes ont été réalisées dans 78 villages concernés par la culture du niébé. Au total, 138 personnes ont été interrogées (70 à Tizi-Ouzou, 42 à Tidikelt, et 26 à Djanet). Pour chacune d'elles, l'enquête a été menée sous forme d'entretiens au cours desquels la personne rencontrée (homme ou femme) a répondu au questionnaire semi-structuré. Ils se sont déroulés sur le lieu d'habitation de l'agriculteur. Chaque individu est identifié par un numéro correspondant à une région donnée : de 1 à 70 pour la région de Kabylie, de 71 à 112 pour la région de Tidikelt et de 113 à 138 pour la région de Djanet.

2.2.2. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'un dépouillement manuel. L'analyse des fréquences des modalités ainsi que le coefficient de corrélation de Pearson ont été réalisés à l'aide du logiciel XL-STAT-PRO version 7.5.

Le logiciel SAS (SAS 8 for windows, 2001) a été utilisé pour l'Analyse des Correspondances Multiples (ACM) et la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). La CAH a été réalisée à partir des matrices de similarité, elle a permis de grouper les accessions étudiées selon leurs degrés de ressemblance sur la base du critère d'agrégation de Ward.

3. RÉSULTATS

3.1. PROSPECTION ET COLLECTE

3.1.1. Analyse des fréquences

Un total de 121 accessions a été collecté pour mettre en place une collection représentative de la diversité de cette culture en Algérie.

Le logiciel DIVA nous a permis de visualiser la distribution spatiale des 121 accessions de niébé analysées dans la présente étude (figure 1B). Les accessions sont distribuées dans le nord et dans le sud de l'Algérie. Chaque point représente sur la figure 1B, le lieu où une accession de niébé a été trouvée et échantillonnée, pour être mise en banque de conservation *ex situ*.

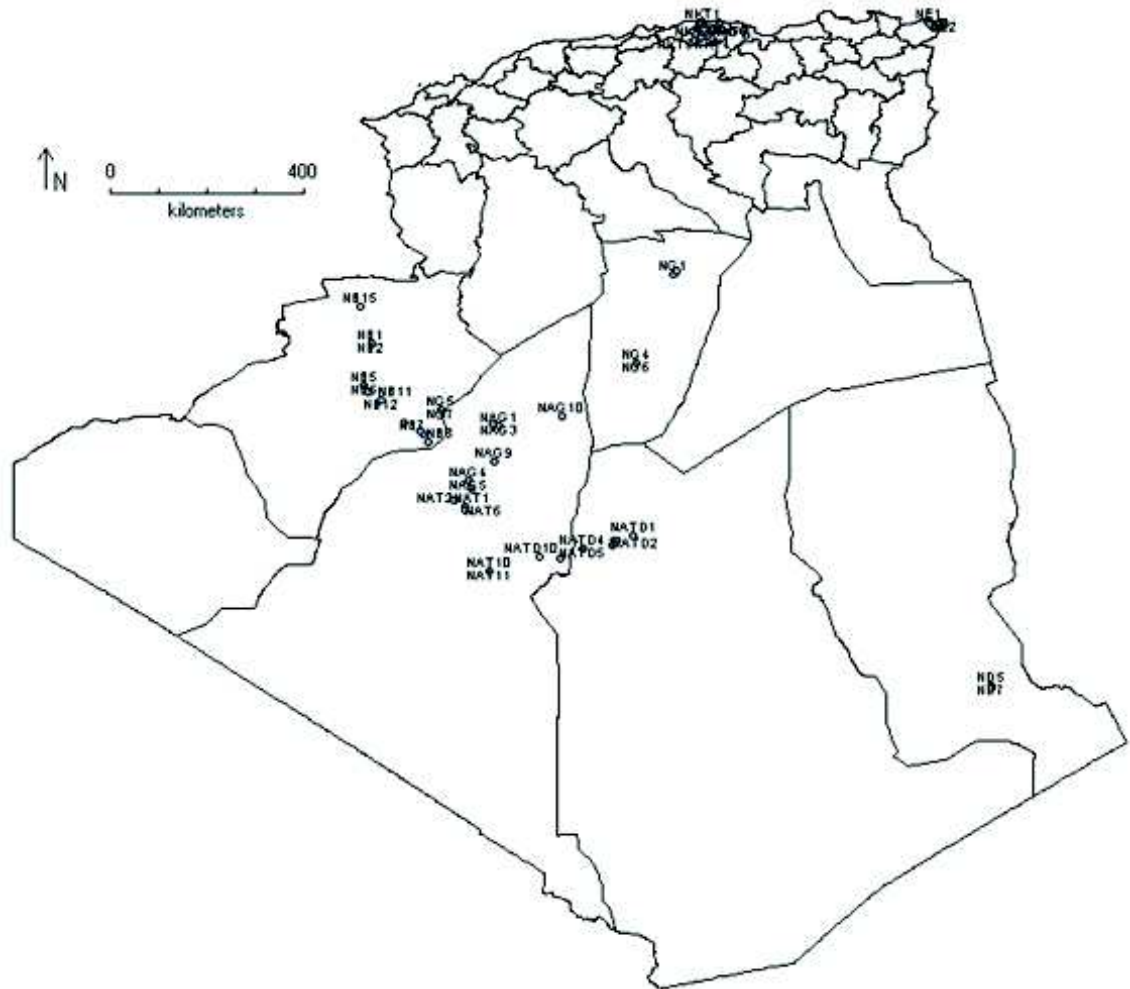


Figure 1B : Répartition géographique des différents écotypes de niébé cultivés en Algérie

L'analyse statistique de l'ensemble des données morphologiques mesurées a permis d'estimer la variabilité génétique qui existe entre les différentes accessions du niébé étudiées. Les prospections ont permis de répertorier plusieurs écotypes locaux de niébé selon la morphologie des graines (figure 2).



Figure 2 : Diversité morphologique des graines de niébé cultivées en Algérie

Plusieurs couleurs de graines ont été recensées. Le morphotype à graines de couleur crème et œil noir, prédomine en Kabylie avec une fréquence de 81,4 %, ce morphotype a été identifié également dans la région d'El Kala avec une fréquence de 18,2 %. Quelques accessions correspondantes à ce morphotype ont été localisées dans les régions du Gourara, Touat et Béchar avec des fréquences respectives de 10 %, 9,1 % et 5,6 %.

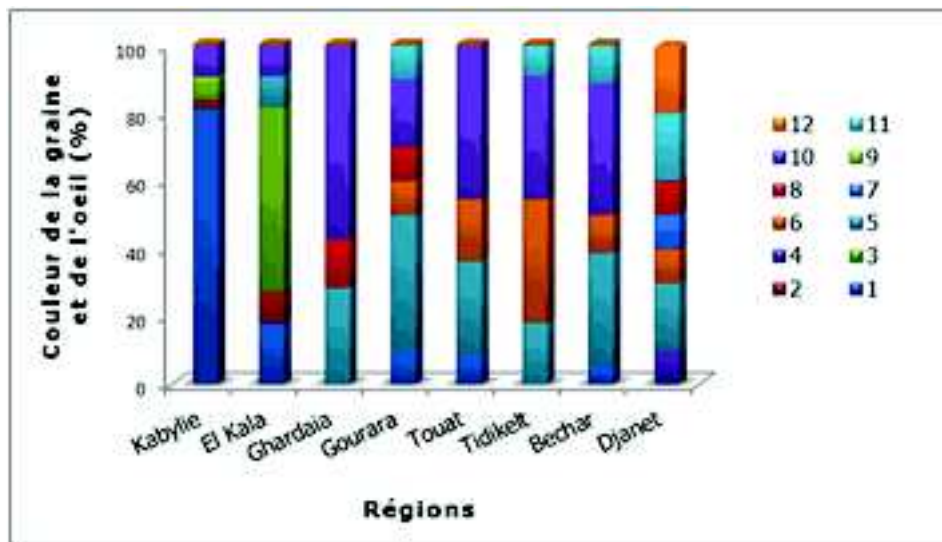
Le morphotype à graines de couleur crème et à œil brun est le plus présent dans la région d'El Kala avec une fréquence de 54,5 %. Cette forme a été également identifiée en Kabylie mais avec seulement une fréquence de 4,7 %. Les morphotypes de couleur noire et beige-brune avec absence d'un œil entourant le hile de la graine sont les plus présents dans les oasis du Sahara avec une fréquence des graines à couleur noire de 57,7 % à Ghardaïa, 45,5 % dans la région du Touat, 38,9 % à Bechar et 27,35 % dans la région du Gourara. Toutefois, cette couleur n'a pas été identifiée dans la région de Djanet. Les morphotypes à graines beige-brune prédominent dans les oasis du sud avec une fréquence de 40 % à Gourara, 33,3 % à Béchar, 28,6 % à Ghardaïa, 27,3 % dans la région du Touat, 20 % à Djanet et 18,2 % dans la région du Tidikelt. Dans le nord du pays, cette couleur a été observée uniquement dans la région d'El Kala avec une fréquence de 9,1 %.

Six écotypes se sont avérés très rares, avec des effectifs ne dépassant pas 2,5 % du total des accessions collectées. Il s'agit des morphotypes à graines crèmes avec un œil brun large rencontrés en Kabylie et dans la région d'El Kala avec une fréquence de 1,7 %, les morphotypes à graines de couleur brune-olive (2,5 %) identifiés uniquement dans les régions d'El Goléa, Gourara et Djanet, les morphotypes à graines de couleur brune-ocre avec une fréquence de 0,8 % trouvées uniquement dans la région de Djanet.

Les morphotypes à graines de couleur holstein localisés uniquement dans un seul site dans la région de Béjaia en Kabylie (0,8 %), les formes à graines blanches (0,8 %) et les formes à graines beiges tachetées (0,8 %) identifiées uniquement dans la région de Djanet (figure 3).

Le caractère forme de la graine réniforme prédomine dans le nord avec une fréquence de 72,7 % dans la région d'El Kala et 65,1 % en Kabylie (Figure 4). Dans les oasis du Sahara la forme ovoïde est la plus répandue avec des fréquences respectives de 90,9 % dans la région du Tidikelt et du Touat, 80 % dans la région du Gourara, 77,8 % dans la région de Béchar et 71,4 % dans la région de Ghardaïa. Cependant, dans les oasis de Djanet cette forme est présente avec seulement une fréquence de 20 %.

Dans le nord du pays cette forme a été signalée avec des fréquences de 18,2 % dans la région d'El Kala et 4,7 % en Kabylie. Des graines de forme rhomboïde ont été identifiées aussi en Kabylie avec une fréquence de 30,2 %. La forme arrondie a été signalée dans les régions d'El Kala, Ghardaïa et Djanet avec des fréquences respectives de 9,1 %, 14,3 % et 40 %.



Couleur de la graine et de l'œil : 1- crème œil noir, 2- crème œil brun large, 3- crème œil brun, 4- blanche, 5- brune, 6- beige-brune, 7- brune ocre, 8- brune olive, 9- holstein, 10- noire, 11- rouge, 12- tacheté beige

Figure 3 : Fréquence de la couleur de la graine et de l'œil selon les régions

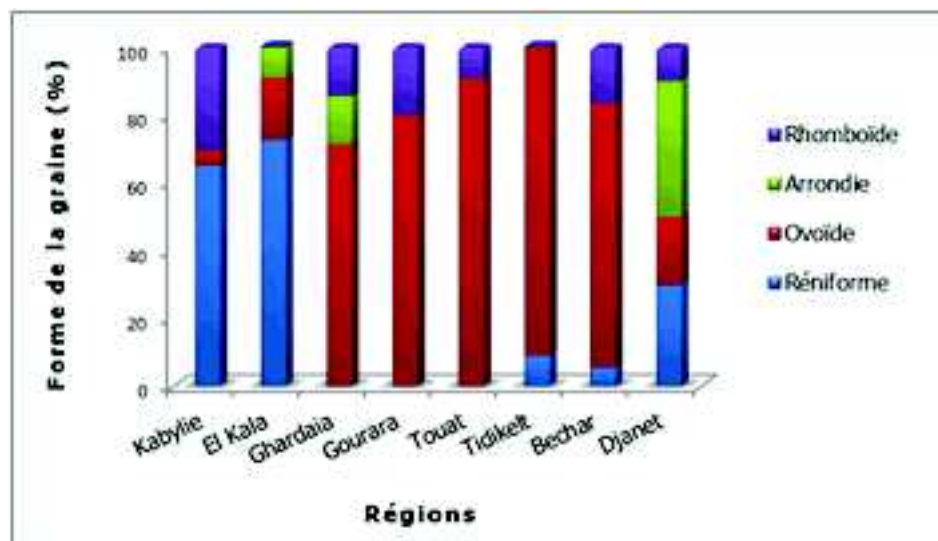


Figure 4 : Fréquence de la forme de la graine selon la région

Le tégument des graines originaires du nord est généralement lisse à rugueux avec une fréquence de 81,1 % dans la région d'El Kala et de 34,9 % en Kabylie; cependant, des graines à tégument rugueux à ridé et ridé ont été identifiées en Kabylie avec des fréquences respectives de 46,5 % et 11,6 %.

Le tégument des graines lisse prédomine dans les oasis du Sahara avec des fréquences de 100 % pour la région de Ghardaïa, Tidikelt et Djanet, 90 % pour les régions du Gourara et du Touat et 94,4 % pour la région de Béchar (figure 5).

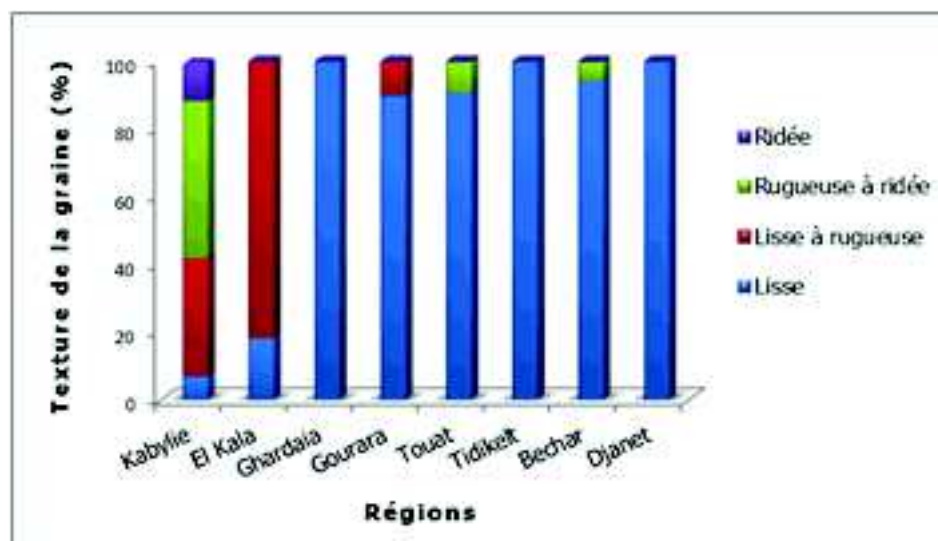


Figure 5 : Fréquence de la texture de la graine selon la région

Les accessions originaires du nord du pays se caractérisent par des graines de grande taille et un poids de cent graines plus important par rapport à celles du sud (figure 6).

Les plus grandes graines ont été observées chez les morphotypes collectés en Kabylie, avec une fréquence de 53,5 % de graines dépassant 9,9mm de longueur et 44,2 % des graines caractérisées par une taille comprise entre 8,6 et 9,9 mm.

Dans la région d'El Kala 54,5 % des graines collectées sont de taille comprise entre 7,1 et 8,6 mm et 45,5 % ont une longueur comprise entre 8,6 et 9,9 mm.

Les graines collectées dans les oasis du Sahara sont de petites dimensions par rapport à celles du nord (figure 6). Des graines avec une taille inférieure à 7,0 mm ont été identifiées dans les régions de Gourara, Touat, Tidikelt, Béchar et Ghardaïa avec des fréquences respectives de 100 %, 90,9 %, 90,9 %, 94,4 % et 85,7 %.

Les oasis de Djanet se sont différenciées des autres oasis du Sahara par la taille de leurs graines qui semble assez variable selon le morphotype étudié, avec 50% des graines de longueur inférieure à 7 mm, 20 % comprises entre 7,1 et 8,6 mm et 30 % de taille supérieure à 9,9 mm.

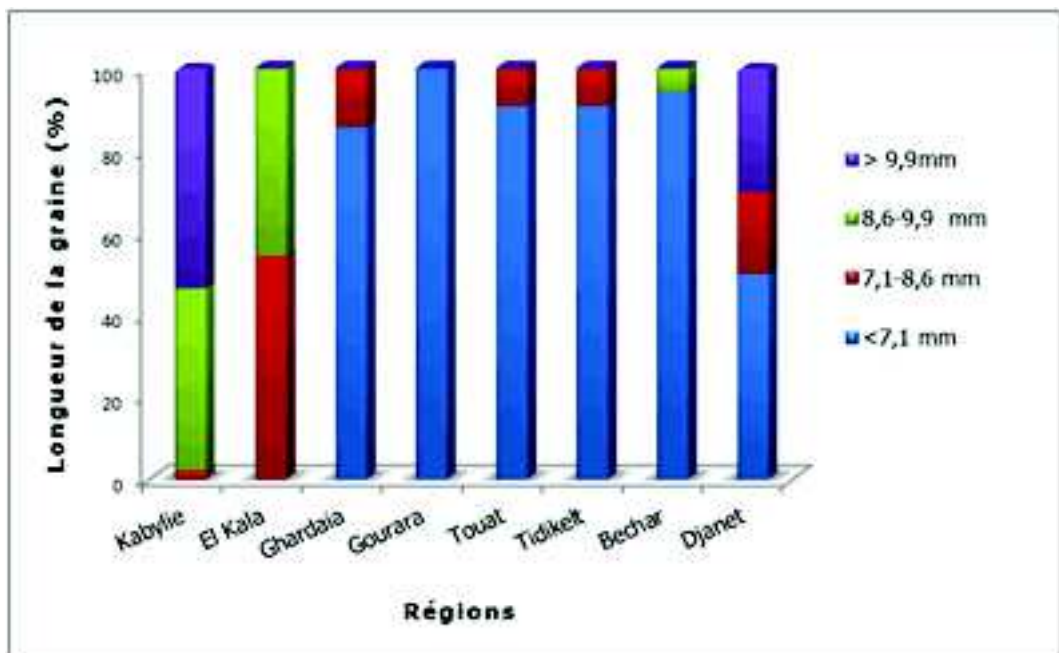


Figure 6 : Fréquence de longueur de la graine selon la région

Le poids de cent graines le plus important a été obtenu en Kabylie chez 30,23 % des formes collectées qui avaient un poids supérieur à 25,66 g alors que 53,48 % des accessions avaient un poids compris entre 17,55 et 25,66 g et 16,27 % présentaient un poids compris entre 10,68 g et 17,55g (figure 7).

Les formes collectées dans les oasis du sud sont caractérisées par un poids de cent graines assez faible, inférieur à 7,92 g chez 14,28 % des formes collectées à Ghardaïa, 10 % à Gourara, 45,45 % au Touat et 45,45 % à Tidikelt et 5,55 % des accessions collectées dans la région de Béchar. Un poids compris entre 7,92 et 9,21 g pour 28,57 % des accessions en provenance de Ghardaïa, 90 % des formes collectées à Gourara, 45,45 % des accessions de Tidikelt et du Touat, 33,33 % des formes de Bechar et 80 % des accessions en provenance de Djanet.

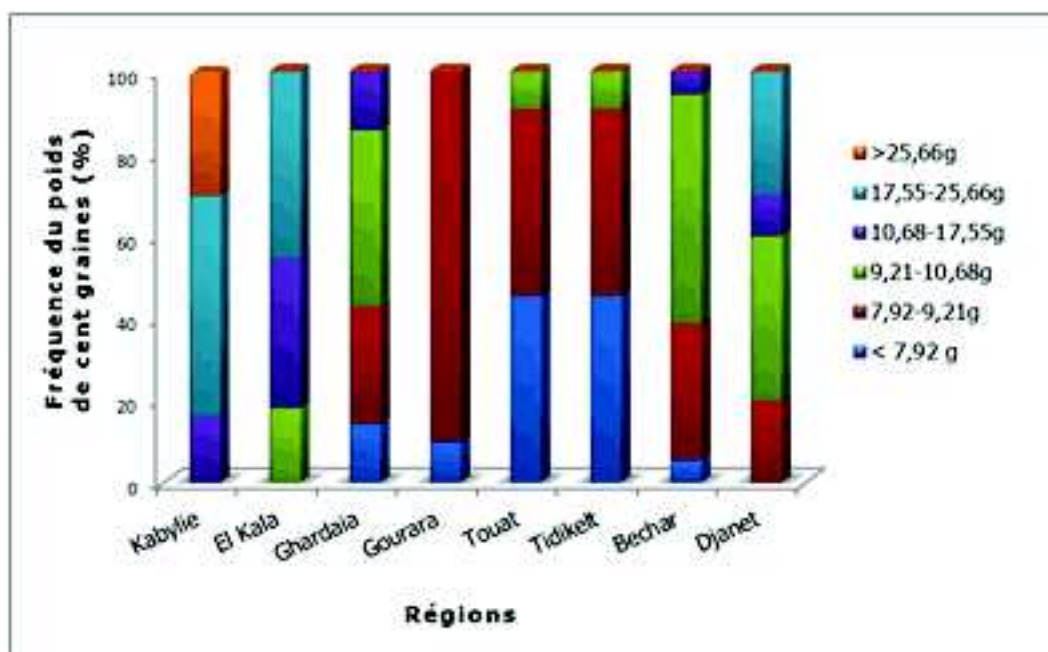


Figure 7 : Fréquence du poids de cent graines selon la région

3.1.2. Analyse des Correspondances Multiples (ACM)

L'ACM permet d'analyser l'ensemble des variables qualitatives permettant d'observer des proximités entre modalités de variables et entre individus.

Pour interpréter chaque axe, on prend en compte les variables qui contribuent le plus à leur construction, c'est à dire les variables pour lesquelles la somme des contributions des modalités est la plus élevée. Les trois premiers axes factoriels permettent d'expliquer près de 76 % de l'information ce qui est assez représentatif. Le premier axe est principalement expliqué par les modalités des variables Couleur de la graine crème, (10,46 % de l'inertie globale), Couleur noire de l'œil qui entoure le hile de la graine (8,34 %), absence de l'œil (7,07 %), la texture lisse de la graine (7,07 %), la forme réniforme de la graine (5,78%), la forme ovoïde de la graine (8,13 %), la texture lisse de la graine (7,07 %) et la longueur de la graine (7,98 %). Ces variables expliquent à elles seules près de 63,60 % de l'inertie globale. Le second axe est expliqué pour près de 70,01 % par les modalités couleur brune (9,79 %) et œil brun large (8,81 %) qui entoure le hile de la graine, forme arrondie de la graine (5,61 %), texture lisse à ridée de la graine (7,69 %), longueur de la graine supérieure à 99mm (11,57 %), poids de cent graines classe 3 (11,89-20,19 g) (15,20 %) et le poids de cent graines classe 5 (23,88-29,05 g) (11,31 %). Le troisième axe quant à lui est expliqué pour près de 68,52 % par les modalités des variables couleur de la graine beige tacheté (32,29 %) et forme de la graine arrondie (36,23 %).

D'après l'analyse du graphique symétrique des différentes modalités étudiées (figure 8), l'axe 1 oppose les graines de forme réniforme, de couleur crème avec présence d'un œil noir et brun, de texture lisse à rugueuse et rugueuse à ridée, caractérisées par des graines de taille Lg3 (8,6-9,9 mm) et Lg4 (>9,9 mm) et par un poids de cent graines Pcg4 (10,68- 17,55 g) g et Pcg5 (17,55-25,66 g) aux graines de forme ovoïde, de texture lisse, de couleur noire, beige-brune et brune avec absence d'un œil entourant le hile de la graine et caractérisées par des graines de petites tailles de classe Lg1 (<7,1 mm) et un poids de cent graines assez faible Pcg1 (<7,92 g) et Pcg2 (7,92-9,21 g).

L'axe 2 oppose les graines de grandes tailles (Lg4) et de poids de cent graines élevé (Pcg5 et Pcg6) aux graines de tailles plus réduites (Lg2, Lg3) et de poids plus faible (Pcg3). Il oppose aussi l'œil noir (Coe3) à l'œil brun et brun large (Coe1 et Coe2).

L'analyse des liaisons entre les 6 variables étudiées par l'utilisation du coefficient de Pearson a montré des corrélations hautement significatives entre la majorité des caractères au seuil 0,05. En effet, une corrélation négative semble lier la couleur de la graine à la présence d'un œil autour du hile de la graine ($r = -0,67$, $P < 0,0001$), les graines de couleur crème sont les seules à présenter un œil entourant le hile.

La couleur de la graine semble être aussi liée négativement à la texture de la graine ($r = -0,57$, $P < 0,0001$), la longueur de la graine ($r = -0,49$, $P < 0,0001$) et au poids de cent graines ($r = -0,51$, $P < 0,0001$).

La couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine est corrélée positivement à la texture de la graine ($r = 0,84$, $P < 0,0001$), la longueur de la graine ($r = 0,70$, $P < 0,0001$) et au poids de cent graines ($r = 0,73$, $P < 0,0001$).

La texture de la graine est positivement liée à la longueur de la graine ($r = 0,72$, $P < 0,0001$) et au poids de cent graines ($r = 0,72$, $P < 0,0001$). La longueur de la graine est corrélée positivement au poids de cent graines ($r = 0,88$, $P < 0,0001$).

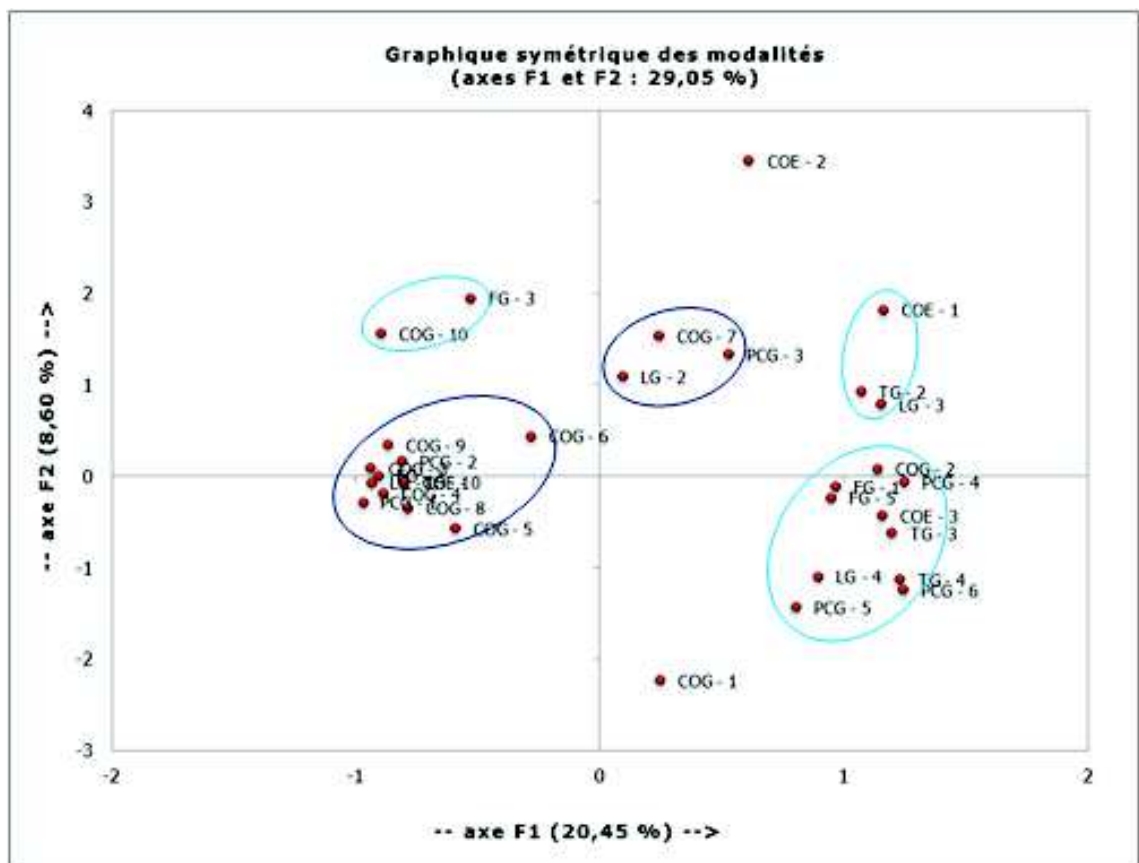


Figure 8 : Analyse des Correspondances Multiples des variables morphologiques des 121 accessions de niébé collectées en Algérie.

L'Analyse des Correspondances Multiples a permis d'obtenir une vue graphique de la structuration des accessions de niébé collectées en Algérie (figure 9). Seuls les trois

premiers axes qui expliquent près de 65,26 % de la variabilité exprimée, ont été pris en compte.

L'axe 1 oppose aussi les formes originaires des oasis du Sahara aux formes originaires du nord du pays, sauf quelques exceptions pour les formes à graines crèmes et à œil noir collectées dans le sud (NAG5, NAT9 et NB13), qu'on trouve regroupées avec les formes du nord et les formes collectées dans la région de Djanet (ND1, ND6, ND7 et ND3) et qui présentent des particularités par rapport aux autres formes du Sahara. Si on regarde la distribution des variables suivant le même axe, on constate que l'axe 1 oppose les modalités couleur des graines crème à œil noir aux couleurs : noire, beige-brune et brune des graines.

L'axe 2 isole les accessions à graines crème à œil noir en provenance de la Kabylie des accessions de même couleur collectées dans la région d'El Kala. Il isole aussi les formes à graines crème et à œil noir des formes à graines crème et œil brun identifiées principalement dans la région d'El Kala. Si on regarde la distribution des variables selon le même axe, on constate que cet axe est marqué par l'opposition des modalités couleur de l'œil brun et brun large entourant le hile de la graine à la couleur noire de l'œil.

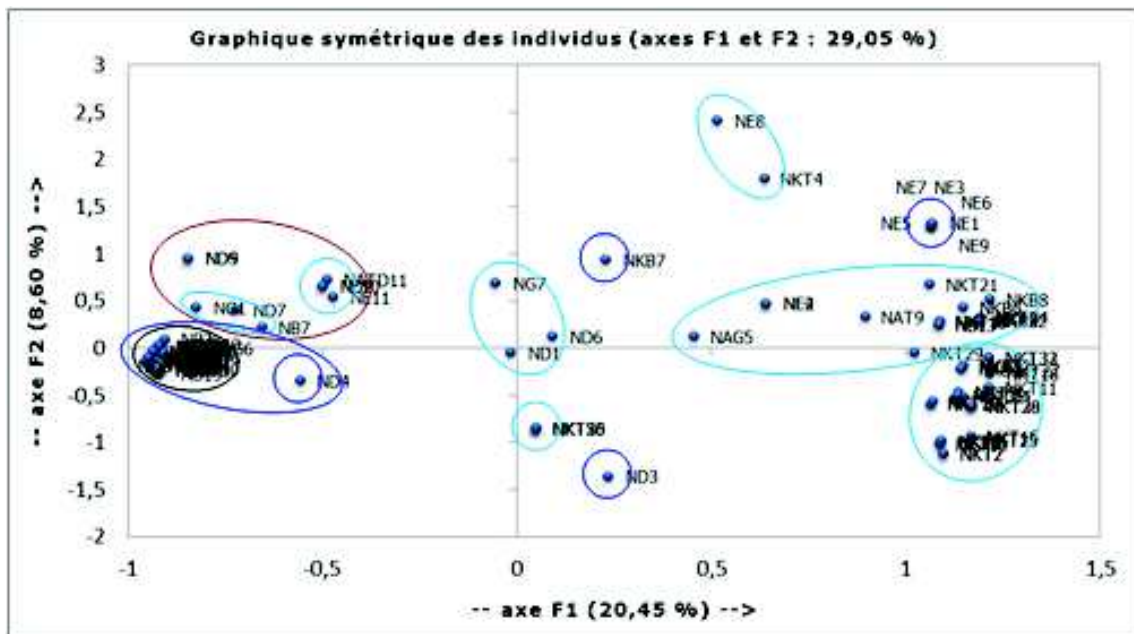


Figure 9 : Analyse des Correspondances Multiples des 121 accessions de niébé collectées en Algérie.

3.1.3. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

Ces observations ont été confirmées par l'analyse de la matrice de distance de similarité et par la CAH qui ont servi à la construction d'un dendrogramme suivant le critère d'agrégation de Ward permettant de grouper les 121 accessions étudiées selon leurs degrés de ressemblance morphologique.

L'analyse du dendrogramme (figure 10) a fait ressortir deux classes principales qui séparent les accessions du nord de celles du sud du pays. La première classe (A) est divisée en 2 sous-classes. La première sous classe (I) regroupe les deux accessions (NE8 et NKT4) caractérisées par des graines crème à œil brun large collectées respectivement dans les régions de Tizi-Ouzou en Kabylie et El Kala dans le nord-est ; et les accessions à graines crème et œil brun collectées dans la région d'El Kala (NE1, NE3, NE5, NE6, NE7 et NE9). La

deuxième sous-classe (II) regroupe les accessions de couleur crème et œil noir originaires de la Kabylie, de la région d'El Kala et 3 accessions collectées dans les oasis du Sahara.

La deuxième classe (B) regroupe la plupart des accessions collectées dans les oasis du Sahara ; elle est divisée en 2 sous-classes. La première sous-classe (I) regroupe 4 accessions collectées dans la région de Tizi-Ouzou en Kabylie (NKT5, NKT26, NKT30, NKT35) et une accession identifiée dans la région d'El Kala (NE11) caractérisée par des graines noires (une couleur trouvée uniquement dans le Sahara) et une longueur des graines supérieure à 9,9 mm, l'accession ND3 caractérisée par des graines de couleur blanche identifiée uniquement dans la région de Djanet et l'accession NKB7 caractérisée par la couleur holstein et identifiée uniquement dans la région de Béjaia en Kabylie. Deux accessions originaires de la région de Djanet (ND1 et ND6) à graines brunes et brunes-olive caractérisées par des formes réniformes et des graines de taille supérieure à 9,9 mm font aussi partie de cette sous-classe. La deuxième sous-classe (II) comprend le reste des accessions originaires des oasis du Sahara, caractérisées par des graines de couleur noire, beige-brune, brune, brune olive, brune ocre, rouge et beige tacheté et d'une texture lisse.

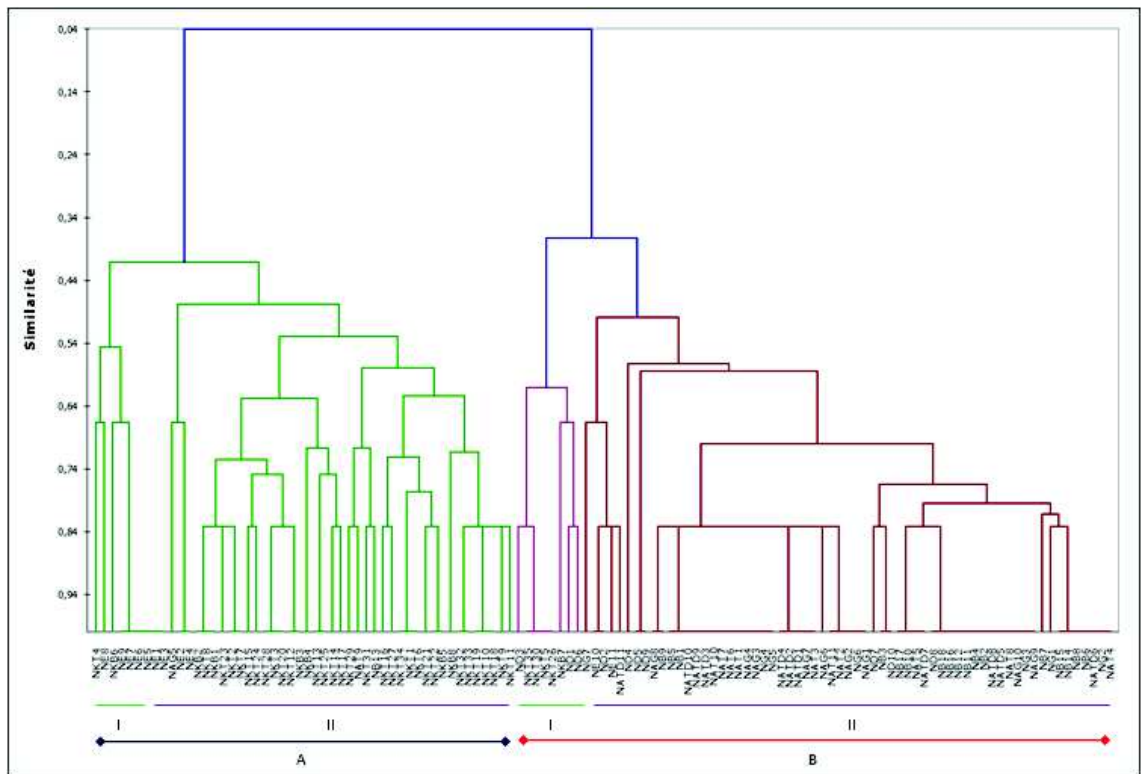


Figure 10 : Dendrogramme représentant les relations morphologiques entre 121 accessions de niébé collectées en Algérie

3.2. ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE ET AGRONOMIQUE

3.2.1 Analyse des fréquences

L'âge des exploitants pratiquant la culture du niébé dans les différentes régions enquêtées est en général très avancé (figure 11). En effet, la majorité des individus questionnés (61,6 %) sont âgés de plus de 65 ans alors que 23,2 % ont un âge compris entre 45 et 65 ans. Les jeunes agriculteurs, âgés de moins de 45 ans, ne représentent que 15,2 % du total. Dans les trois régions étudiées, les femmes représentent la majorité des individus questionnés (73,91 %), elles cultivent elles-mêmes le niébé dans leurs jardins et ont une meilleure connaissance sur sa culture traditionnelle et son histoire dans la région (figure 12).

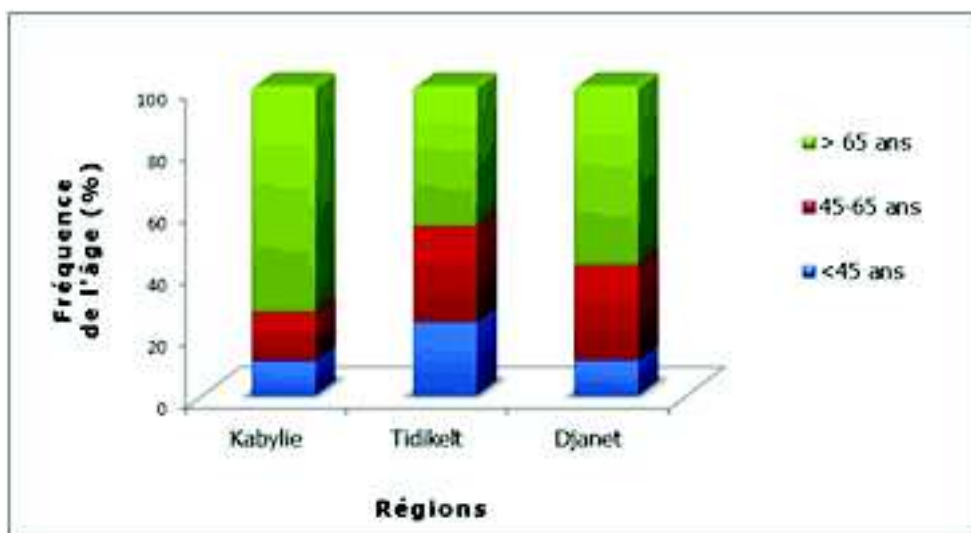


Figure 11 : Répartition de l'âge des individus questionnés selon la région

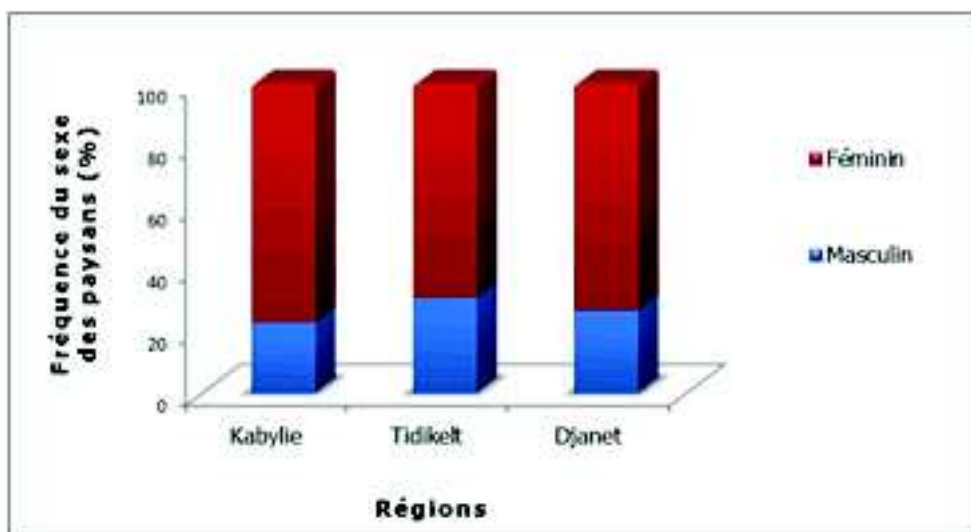


Figure 12 : Répartition du sexe des individus questionnés selon la région

La majorité des individus interrogés (94,93 %) sont propriétaires d'une petite surface de terre et cultivent le niébé dans leur jardin familial comme culture vivrière. Seuls 5,07 % des paysans possèdent une exploitation agricole. La superficie des fermes enquêtées est en général assez réduite. La superficie consacrée au niébé est de moins de 500 m² pour 95,65 % des paysans questionnés et seulement 2,17 % des paysans consacrent au niébé plus de 1000 m² de terrain.

Pour une grande partie des paysans, la production du niébé est destinée à l'auto-consommation (86,2%) alors que 8,7 % gardent une partie pour l'auto-consommation et commercialisent l'excédent et seulement 5,1 % vendent la totalité de leur production (figure 13).

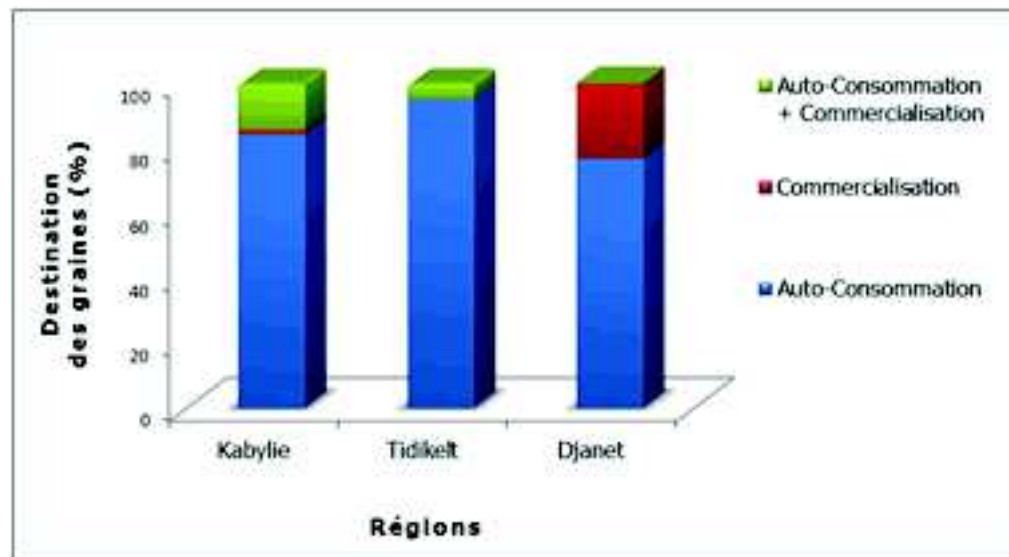


Figure 13 : Fréquence de la destination des graines de niébé selon la région

La majorité des individus enquêtés (55,07%) consomment les graines ainsi que les gousses vertes et utilisent les fanes comme fourrage pour le bétail. D'après la figure 14, 66,66 % des agriculteurs de la région de Tidikelt et 64 % de Djanet utilisent les fanes comme fourrage par rapport à 45,71 % en Kabylie. Les individus interrogés dans la région de Tidikelt sont les seuls à réaliser plus de 2 coupes durant la période de culture du niébé (21,4 %). Une à deux coupes sont réalisées chez 80,8 % des individus de la région de Djanet, 51,4 % des individus interrogés en Kabylie déclarent ne pas utiliser de coupes et utilisent uniquement le résidu de la culture après la récolte comme fourrage (figure 15). Un élevage familial est pratiqué par 62,3 % des agriculteurs cultivant le niébé dans les trois régions étudiées, avec un maximum de 80,8 % d'individus pratiquant l'élevage dans les oasis de Djanet (figure 16).

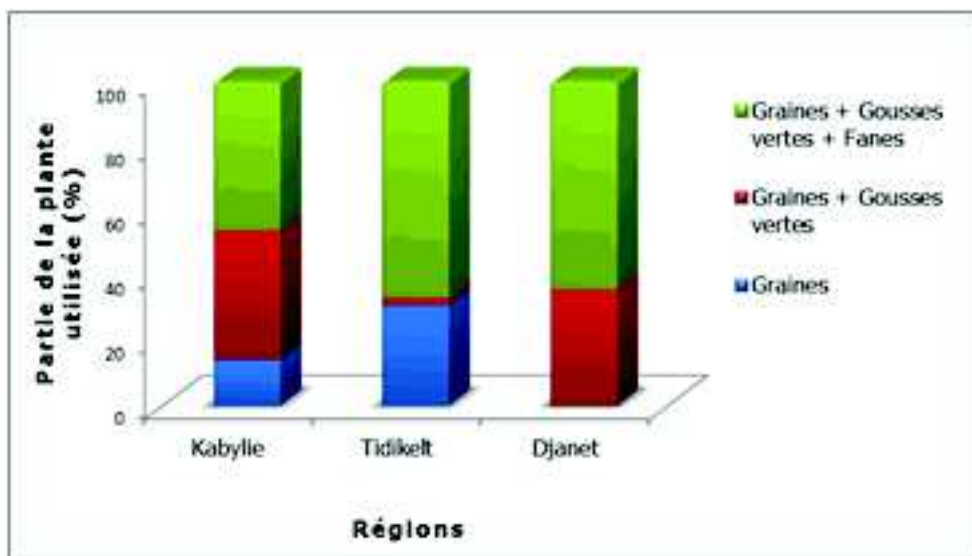


Figure 14 : Fréquence de la partie de la plante utilisée selon la région

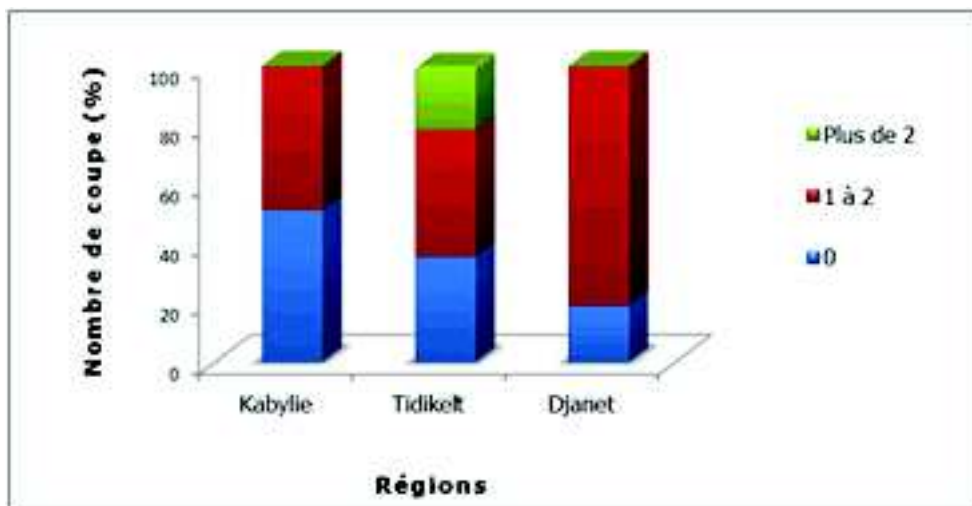


Figure 15 : Fréquence du nombre de coupes réalisés selon la région

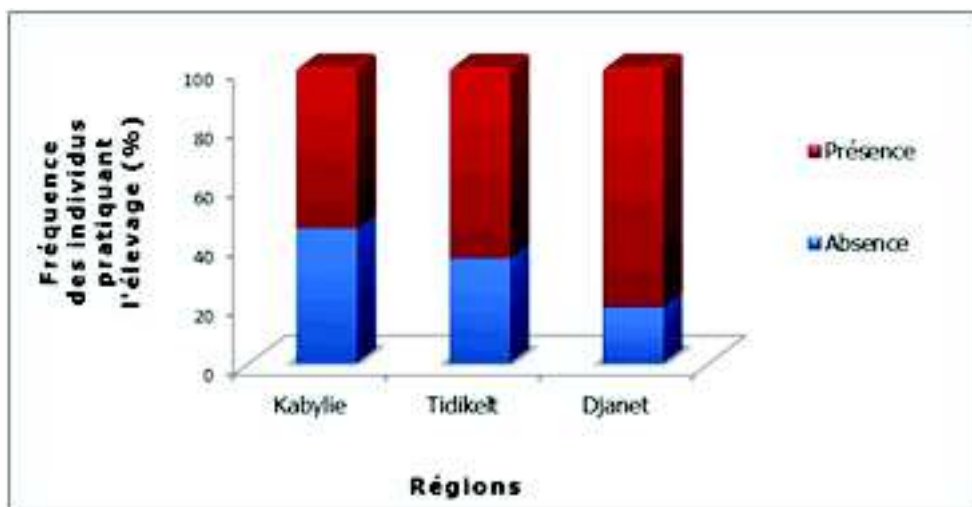


Figure 16 : Fréquence des individus pratiquant l'élevage selon la région

Le niébé est utilisé pour la préparation de plusieurs plats traditionnels en Kabylie et dans les oasis de Tidikelt et de Djanet. Il est utilisé par la totalité des individus questionnés (100 %) pour la préparation du couscous en Kabylie. En association avec le couscous, d'autres plats secondaires contenant le niébé ont été signalés. Le berkoukes un plat traditionnel à base de semoule de blé dur représente la seconde plus importante forme de consommation du niébé dans la Kabylie avec une fréquence de 65 % suivi par el-asbane plat préparé avec des boulettes de semoule typique de la Kabylie avec 25 % et el djouaz ragout de légumes, de viandes et de niébé avec 10 %. Dans la région de Tidikelt, le niébé est utilisé dans la préparation du plat traditionnel Tewasse chez la totalité des individus enquêtés. En association avec ce plat, le niébé est utilisé pour la préparation du couscous chez 46,45 % des cas, le Djouaz chez 41,45% et le Berkoukes chez 12,10% des individus questionnés. Dans la région de Djanet le niébé est utilisé principalement pour la préparation du plat Tewasse (100 %). Il est utilisé aussi pour la préparation de plats secondaires tels que le Djouaz (75 %) et le couscous (25 %).

Les agriculteurs interrogés dans chaque région attribuent un nom particulier au niébé. Ainsi on trouve le nom de *Loubia kabyle* utilisé généralement en Kabylie (par 50,7 % des personnes interrogées pour les trois régions confondues), avec plusieurs synonymes: *Louvianne thavalith* , *Louviane mlaayoune*, *Louvia mthit taverkant* et le nom de *Tadelaght* utilisé dans toutes les oasis du Sahara (49,3 %).

L'origine géographique du niébé cultivé dans les trois régions étudiées est méconnue pour 71,01 % des personnes interrogées. En Kabylie la totalité des individus questionnés ne connaissent pas l'origine géographique de leurs graines alors que les paysans interrogés dans les oasis du Sahara déclarent cultiver dans leur jardin des graines nouvellement introduites, originaires du Niger (22,46 %), du Soudan (4,34 %) et de l'Arabie Saoudite (2,17 %). Cependant, ils déclarent ne pas connaître l'origine des écotypes locaux de niébé cultivées dans leurs régions. En effet, la plupart des individus interrogés (99,3 %) ont déclaré que le niébé est cultivé dans la région depuis fort longtemps, sans pouvoir préciser la date exacte de son introduction. Ils disent qu'il a toujours existé dans la région, alors que 0,7 % seulement des individus déclarent cultiver le niébé depuis une vingtaine d'année.

Le niébé est maintenu en culture à des fins alimentaires par 44,93 % des paysans, pour la conservation du patrimoine (13,77 %), pour la facilité de sa culture, pour des raisons alimentaires et pour préserver les graines (13,04 %) ou bien pour ses qualités gustatives (6,52 %). La majorité des paysans questionnés (86,95 %) pensent que cette culture est en danger et qu'elle ne sera pas préservée par les générations futures, alors que 13,05 % considèrent que cette culture sera maintenue. La majorité des paysans interrogés (94,20 %) affirment qu'ils continueront de cultiver le niébé contre 5,79 % qui pensent abandonner cette culture.

La multiplication de leur propre semence dans leur jardin constitue la principale source de provenance du niébé cultivé avec une fréquence de 85,5 %, alors que 9,4 % des individus déclarent que leurs graines ont été achetées au marché et seulement 5,1 % disent qu'elles proviennent de la famille ou des voisins.

Concernant les pratiques culturales, en Kabylie 92,9 % des individus interrogés sèment le niébé entre avril et mai. Dans les oasis du Sahara, le semis du niébé est plus précoce (entre février et mars) pour la majorité des personnes questionnées (88,11 %) dans la région de Tidikelt et pour la totalité des agriculteurs de Djanet (figure 17). Le mode de semis le plus utilisé dans les régions enquêtées est le semis en ligne (52,17 %), suivi du semis le long

des seguias (32,61 %), du semis en poquet (10,87 %) et enfin le semis à la volée pratiqué par seulement 4,34 % des individus.

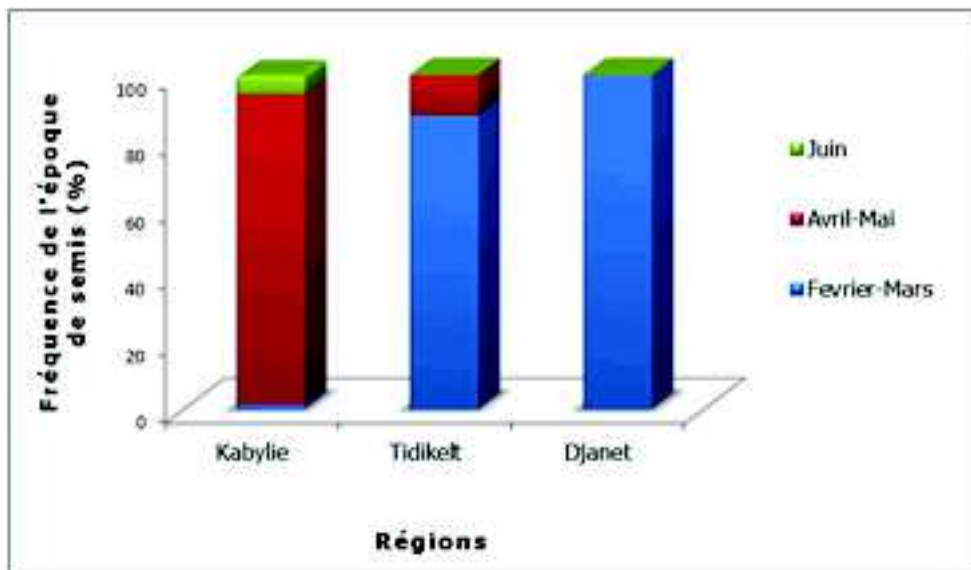


Figure 17 : Fréquence de l'époque de semis selon la région

Généralement en Kabylie, les plantes de niébé fleurissent un mois après le semis pour 68,6 % des cas et un mois et demi à deux mois après le semis pour 31,4 % des cas.

Dans les oasis du sud, la floraison semble être plus tardive, 92,9 % des individus questionnés dans la région de Tidikelt ont signalé une floraison un mois et demi à deux mois après le semis et 50 % à Djanet ont signalé une floraison du niébé plus de deux mois après le semis (figure 18).

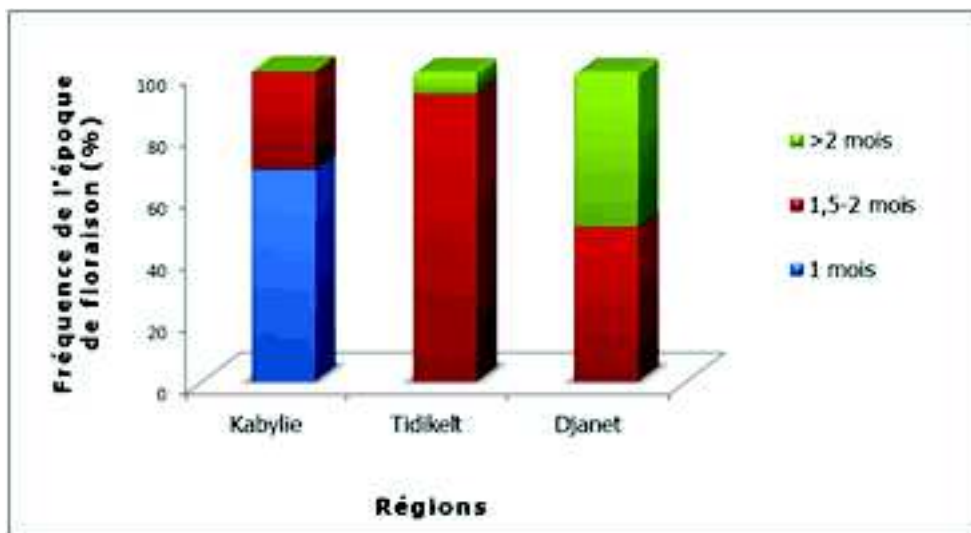


Figure 18 : Fréquence de l'époque de floraison selon la région

La récolte du niébé est manuelle et s'effectue généralement en plusieurs étapes (récolte en vert et plusieurs récoltes en sec). La récolte des gousses mures est réalisée entre juin et septembre en Kabylie pour 97,1 % des cas. La récolte en sec dans les oasis est échelonnée de juillet à octobre pour 78,6 % des personnes interrogées dans le Tidikelt et pour la totalité des paysans enquêtés (100 %) dans la région de Djanet (figure 19).

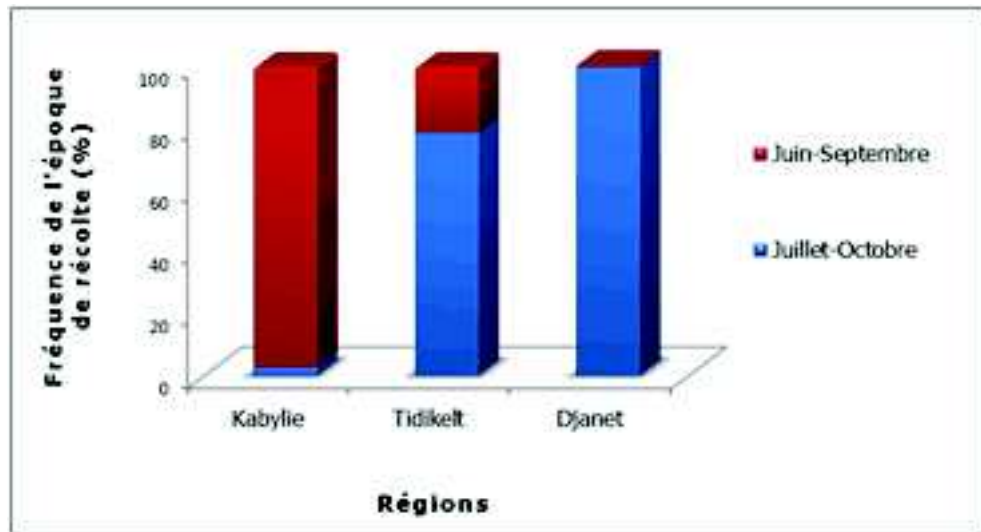


Figure 19 : Fréquence de l'époque de récolte selon la région

Le niébé est cultivé en Kabylie dans les jardins familiaux en association avec d'autres cultures légumières (34,4 %). En plus des cultures potagères, les agriculteurs cultivent des arbres fruitiers représentés par des espèces rustiques caractéristiques de la région comme l'olivier et le figuier (68,6 %). La culture du niébé dans les oasis est pratiquée sous les palmiers dattiers en association avec d'autres cultures potagères et arbres fruitiers (figure 20).

L'eau est disponible chez 64,5 % des individus interrogés alors qu'elle pose problème pour 35,5 % des cas. En Kabylie, elle est disponible pour 70 % des agriculteurs cultivant le niébé. Sa disponibilité a été aussi signalée dans les régions de Tidikelt (57,1 %) et de Djanet (61,5 %).

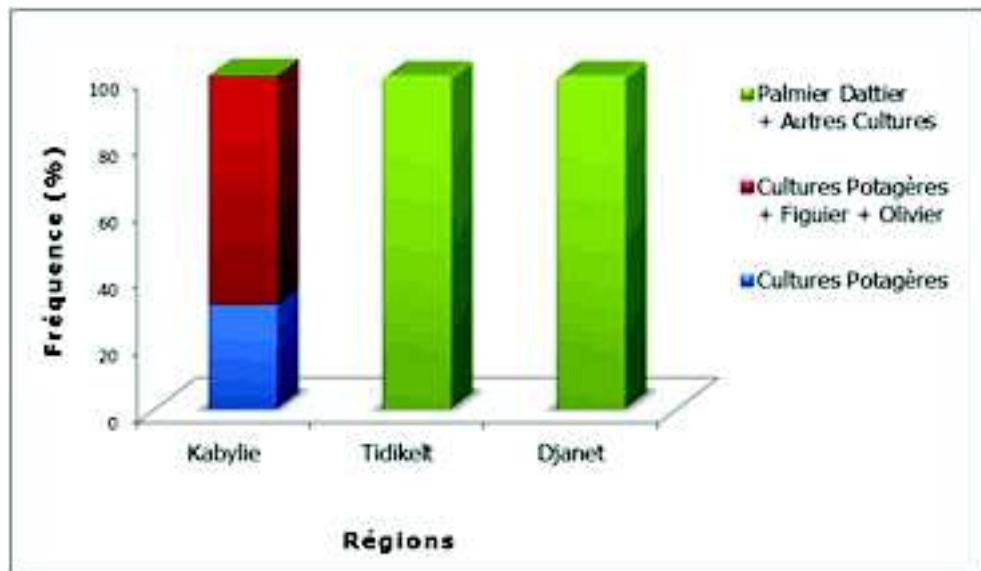


Figure 20 : Fréquence des autres spéculations présentent en même temps que le niébé selon la région

La méthode d'irrigation la plus utilisée dans les oasis est l'irrigation à la raie avec une fréquence de 90,5 % dans le Tidikelt et 100 % dans la région de Djanet (figure 21). L'irrigation par aspersion est pratiquée avec une fréquence de 38,6 % en Kabylie.

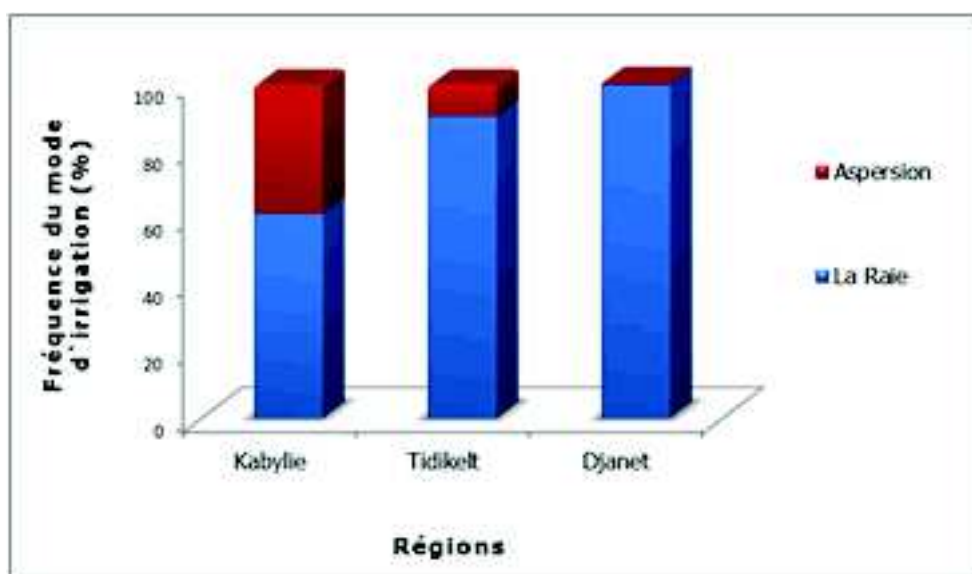


Figure 21 : Fréquence du mode d'irrigation selon la région

Une fertilisation est appliquée par la majorité des individus interrogés en Kabylie (94,3 %), à Tidikelt (92,9 %) et à Djanet (100 %), alors que le reste pratique la culture traditionnelle sans utilisation de fertilisants (figure 22). La majorité des paysans des oasis du Sahara préfèrent utiliser l'engrais organique avec une fréquence de 85,71 % à Tidikelt et 100 % à Djanet, alors qu'en Kabylie, seulement 42,85 % des individus interrogés utilisent ce type d'engrais (figure 23).

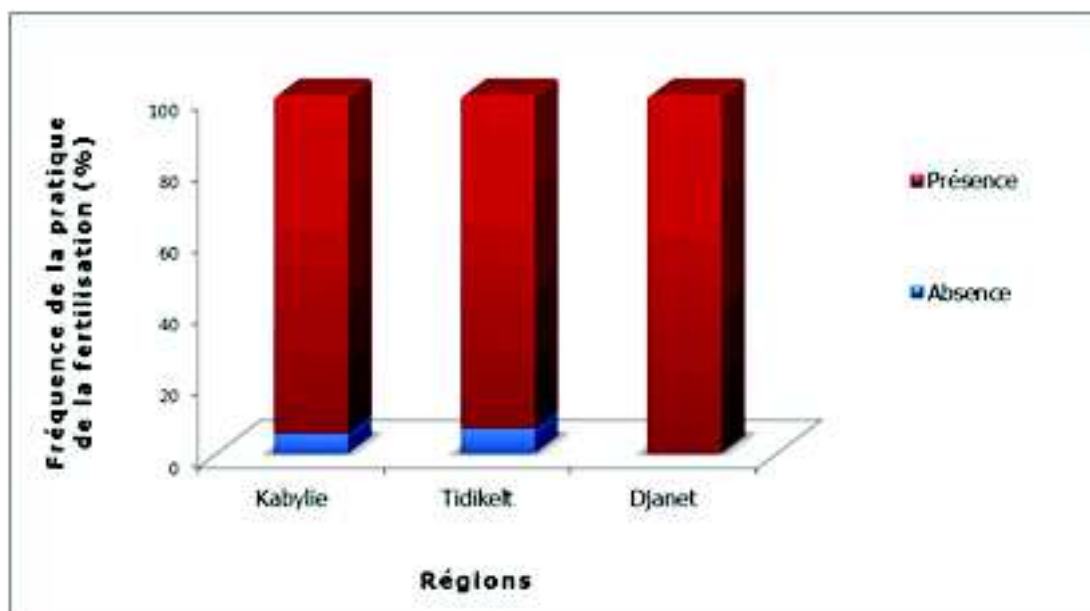


Figure 22 : Fréquence de la pratique de la fertilisation selon la région

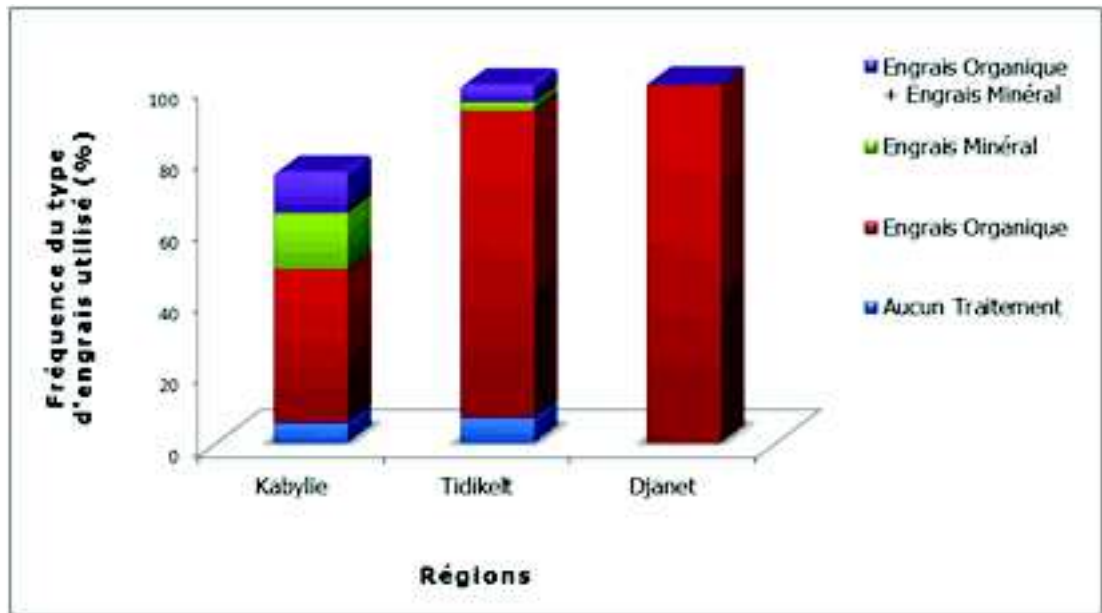


Figure 23 : Fréquence du type d'engrais utilisé selon la région

Concernant la fixation de l'azote atmosphérique par le niébé, la présence de nodules sur les racines des plantes a été signalée par 65,94 % des individus questionnés. Elle a été observée chez 65,71 % des cas en Kabylie, 45,24 % dans le Tidikelt et chez la totalité des Individus interrogés à Djanet.

Parmi les maladies et ennemis causant le plus de dégât chez le niébé, les champignons sont les plus cités en Kabylie, avec une fréquence de 51,4 %, alors que les insectes ont été signalées par 61,9% des agriculteurs de Tidikelt et 65,4 % de Djanet (figure 24). Il est à signaler que pour 52,9 % des agriculteurs (toutes régions confondues) la culture du niébé est ravagée uniquement par les insectes, alors que pour 37,7 % les maladies fongiques sont associées aux insectes et 9,4 % des paysans ne signalent aucune maladie ou ennemi chez cette espèce.

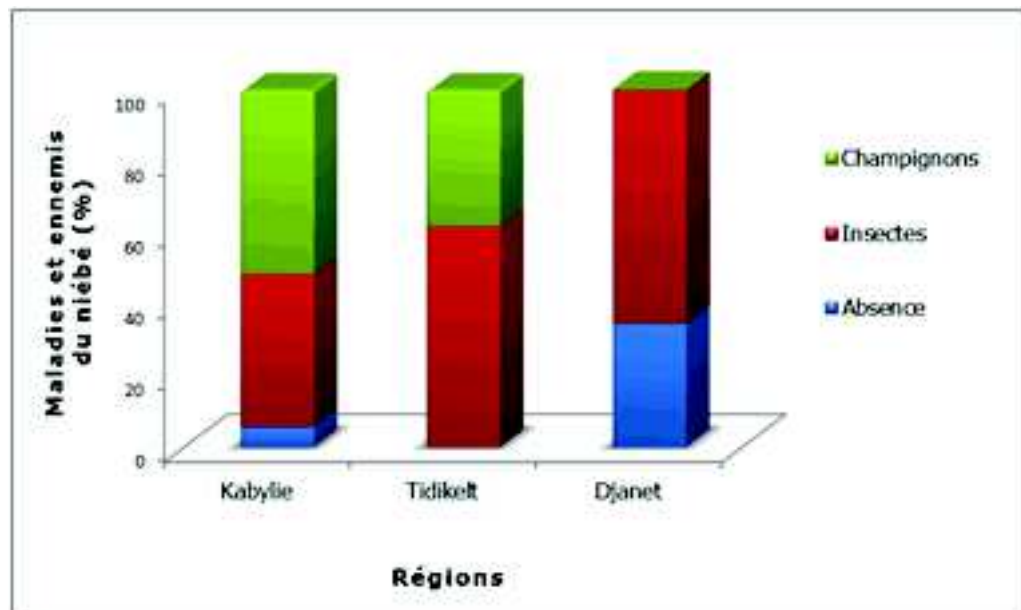


Figure 24 : Fréquence des maladies et ennemis du niébé selon la région

Les agriculteurs de la Kabylie utilisent le plus de traitements phytosanitaires pour lutter contre les maladies et ennemis du niébé (71,4 %), par contre la majorité des paysans de Tidikelt (76,2 %) et Djanet (80,8 %) ont tendance à ne pas traiter les plantes de niébé (figure 25).

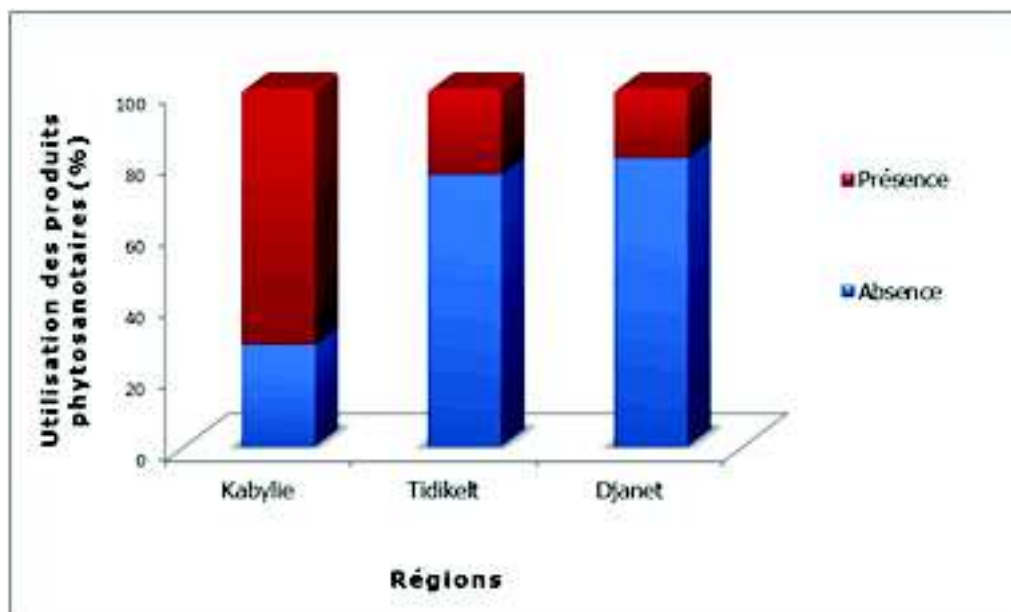


Figure 25 : Fréquence de l'utilisation des produits phytosanitaires selon la région

Dans les trois régions étudiées, les bruches ont constitué le seul problème lors du stockage des graines de niébé (Kabylie : 95,7 %, Tidikelt : 90,4 %, Djanet : 88,46 %). Les agriculteurs du sud préfèrent utiliser la méthode de lutte traditionnelle (Tidikelt : 90,47 % et Djanet : 88,46 %), alors que 17,1 % des individus interrogés en Kabylie utilisent des produits chimiques pour lutter contre les bruches lors du stockage des graines (figure 26).

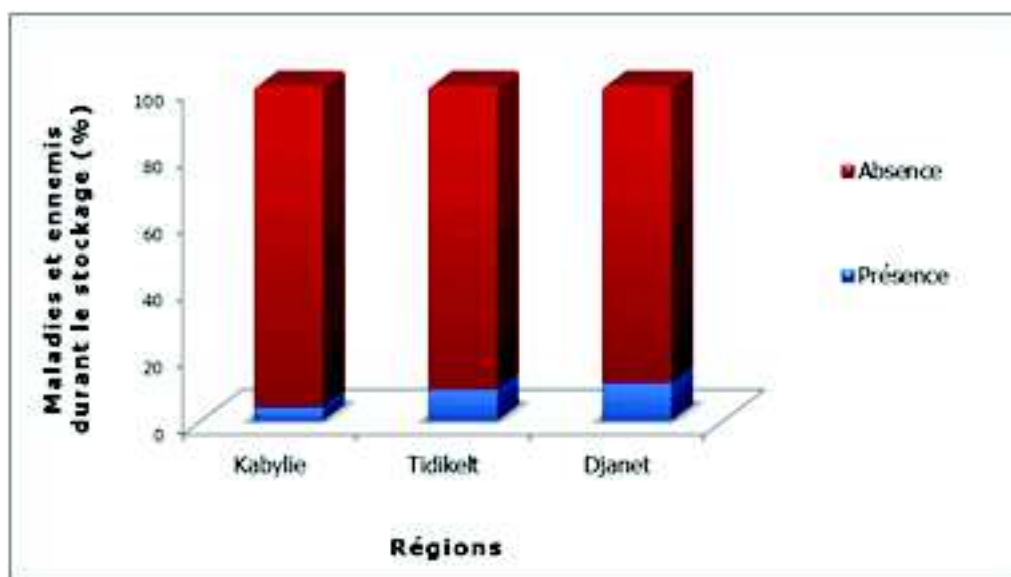


Figure 26 : Fréquence des maladies et ennemis du niébé durant le stockage

Plusieurs méthodes traditionnelles de protection contre les bruches ont été recensées au niveau des paysans. L'utilisation de l'huile d'olive principalement par les femmes âgées, est pratiquée par 48,57 % des questionnés et est rencontrée dans la région de Kabylie dans les zones de montagnes et du littoral. L'utilisation du stockage au froid (17,14 %) et des produits chimiques (20 %) sont des méthodes utilisées aussi en Kabylie (figure 27). Ces méthodes s'appliquent surtout aux graines de niébé destinées au semis.

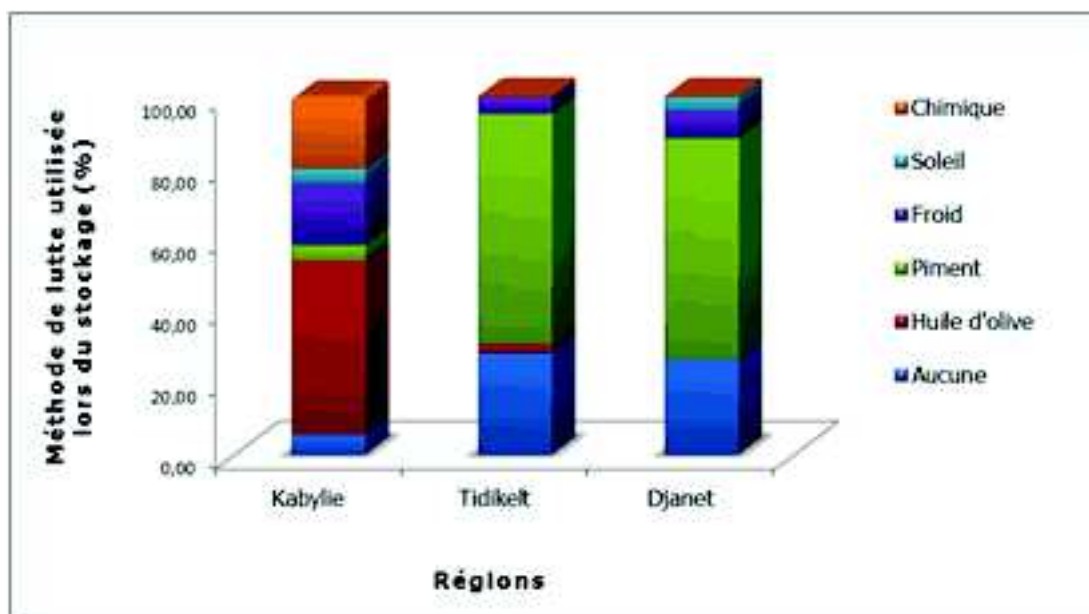


Figure 27 : Fréquence de la méthode de lutte utilisée lors du stockage des graines selon la région

L'utilisation de produits naturels tels que les fruits matures du piment est pratiquée dans les régions de Tidikelt (64,28 %) et de Djanet (61,53 %). Toutefois, 28,57 % des individus questionnés dans le Tidikelt et 26,92 % à Djanet n'utilisent pas de traitement lors du stockage des graines.

3.2.1. Analyse des Correspondances Multiples (ACM)

Les deux premiers axes de l'ACM ont permis d'expliquer près de 72,31 % de l'information, ce qui est assez représentatif.

Le premier axe a absorbé 64,92 % de la variation; il est principalement expliqué par les variables régions Reg (14,9%), nom vernaculaire Nov (14,6 %), destination des graines Des (2,7 %), époque de semis Es (13,6 %), époque de floraison Ef (8,7 %), époque de récolte Er (12,7 %) et autres spéculations présentes en même temps que le niébé Asp (13,0 %), utilisation des produits phytosanitaires Uph (4,7 %) qui contribuent à expliquer 84,9 % de la variation de l'axe 1 (figure 28). Les tests de corrélation de Pearson ont indiqué des corrélations significatives au seuil de signification $\alpha=0,05$. La région étudiée est positivement corrélée au nom vernaculaire de l'espèce Nov ($r=0,90$, $P<0,0001$), l'époque de floraison Ef ($r=0,68$, $P<0,0001$) et à la variable Asp (autres spéculations cultivées en même temps que le niébé) ($r=0,81$, $P<0,0001$). La variable région reg est également négativement corrélée à l'époque de semis ES ($r=-0,75$, $P<0,0001$), l'époque de récolte Er ($r=-0,70$, $P<0,0001$) et à l'utilisation des produits phytosanitaires Uph ($r=-0,55$, $P<0,0001$).

Le second axe qui explique 7,39 % de la variation, est caractérisé par les variables : partie utilisée Put (23,7 %), élevage Elv (23,1 %), Nombre de coupe Ncp (23,7%), Maladies et ennemies Menn (12,9%), Maladies et ennemis lors du stockage Mens (5,11 %) et Méthode de lutte lors du stockage Mlu (5,7 %), qui contribuent à expliquer 84,7 % de la variation totale de cet axe (figure 28). Le test de corrélation de Pearson a indiqué que la partie utilisée de la plante (Put) est positivement corrélée à la destination des graines (Des) ($r=0,20$, $P=0,02$) et à l'élevage Elv ($r=0,64$, $P<0,0001$) et au nombre de coupe Ncp ($r=0,68$, $P<0,0001$). Les maladies et ennemies du niébé sont négativement liés aux régions étudiées ($r=-0,43$, $P<0,0001$) et positivement corrélés à l'utilisation des produits phytosanitaires ($r=0,36$, $P<0,0001$). Aussi, les maladies et ennemis signalés lors du stockage sont corrélés positivement à la méthode de lutte utilisée par les paysans durant le stockage des graines ($r=0,69$, $P<0,0001$).

Le premier axe a opposé principalement les populations des villages de Kabylie (Reg1), qui cultivent le niébé en lui attribuant le nom vernaculaire de *Loubia kabyle* (Nov1), aux populations des oasis du Sahara (Tidikelt (Reg2) et Djanet (Reg3)) qui connaissent le niébé sous le nom de *Tadelaght* (Nov2).

L'axe 1 a opposé aussi les individus questionnés en Kabylie qui sèment le niébé entre avril et mai (Es2), avec une floraison observée un mois après le semis (Ef1) et une récolte des gousses sèches entre juillet et octobre (Er2) aux individus enquêtés dans les oasis du Sahara qui sèment le niébé plus tôt (février-mars : Es1), avec une floraison des plants un mois et demi à deux mois après le semis (Ef2) ou jusqu'à plus de deux mois après le semis (Ef3) et récoltent les gousses de niébé entre juin et septembre (Er1). L'axe 1 a opposé également les cultures potagères (Asp1) et les cultures potagères en association avec l'olivier et le figuier (Asp2) cultivés en même temps que le niébé en Kabylie à la culture du niébé sous palmier dattier en association avec des cultures potagères et arbres fruitiers (Asp3) dans les oasis du Tidikelt et Djanet. De plus, l'axe 1 a opposé l'utilisation de produits phytosanitaires pour le traitement des maladies et ennemis attaquant le niébé (Uph1) en Kabylie à l'absence de traitements phytosanitaires (Uph0) dans les oasis du Sahara.

L'axe 2 quant à lui, a opposé principalement les individus pratiquant l'élevage (Elv1) en réalisant une à plusieurs coupes (Cp1, Cp2) durant le cycle de la plante, consommant les graines, les gousses vertes et utilisant les fanes comme fourrage (Put3) aux individus qui ne pratiquent pas l'élevage (Elv0), ne réalisent aucune coupe sur la plante (Ncp0) et qui consomment uniquement les graines ou les graines et les gousses vertes (Put1, Put2).

L'axe 2 a opposé aussi les paysans enquêtés qui ne signalent pas la présence de maladies ou d'ennemis lors de stockage (Mens0) et qui n'utilisent aucune méthode de lutte durant le stockage (Mlu0) aux paysans qui ont indiqué la présence de bruches lors du stockage des graines (Mens1) et utilisent la méthode de lutte traditionnelle (Mlu1) contre les ennemis des graines durant le stockage du niébé.

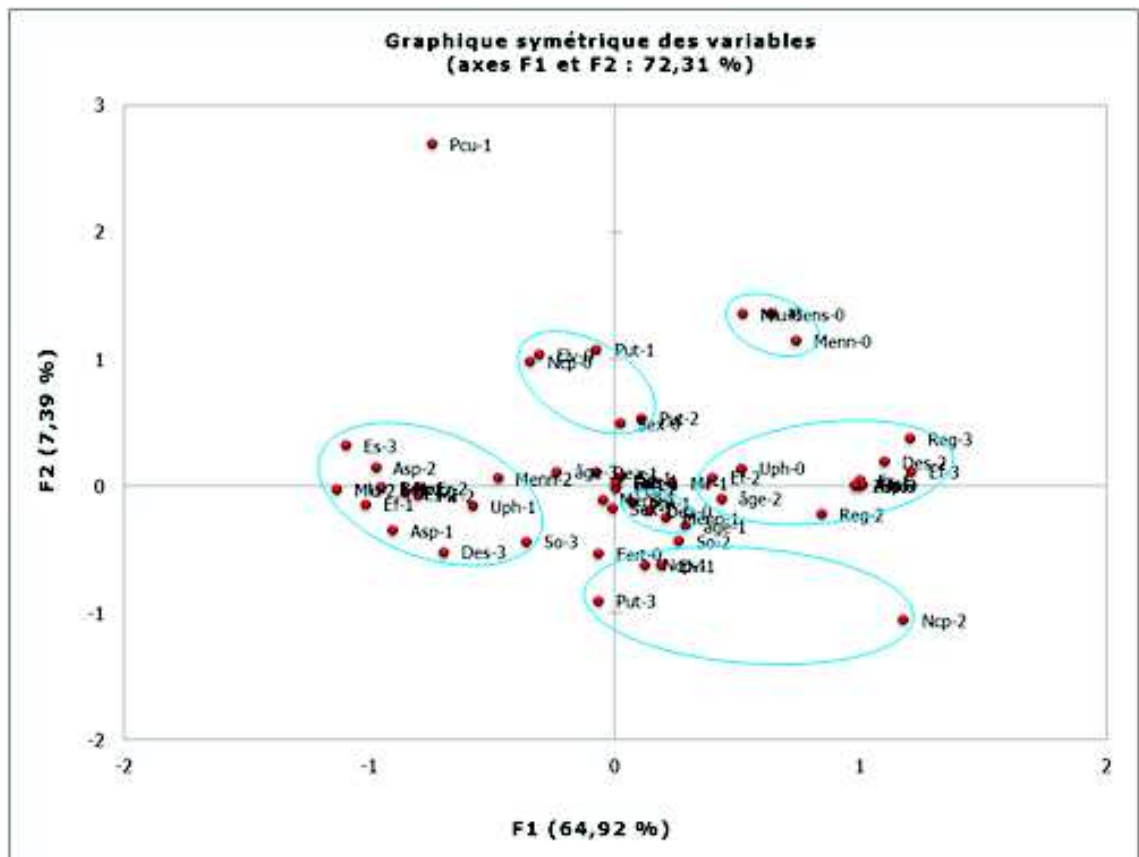


Figure 28 : Analyse des modalités des variables ethnobotaniques et agronomiques sur le plan défini par les axes 1 et 2 de l'Analyse des Correspondances Multiples (ACM).

Concernant l'analyse des correspondances multiples des individus enquêtés selon les variables ethnobotaniques et agronomiques, seuls les deux premiers axes absorbant 79,70 % de l'inertie totale seront interprétés. Le plan des axes 1 et 2 de l'ACM, représentant respectivement 72,31 % et 7,39 % de la variabilité totale est présenté en figure 29. Le regroupement des individus dans ce plan est fort lié à l'origine géographique des villages enquêtés. La projection des points moyens de nos individus sur le plan défini par les axes 1 et 2 (figure 29) a montré suivant l'axe 1, une opposition nette entre les populations de Kabylie et celles des oasis du Sahara (Tidikelt et Djanet).

Suivant l'axe 2, les populations kabyles et celles du Sahara (Djanet et Tidikelt) sont réparties en deux groupements selon les variables présence ou absence de l'élevage, le nombre de coupes, la partie de la plante utilisée, la présence ou l'absence de bruches lors du stockage, et la méthode de lutte contre les bruches.

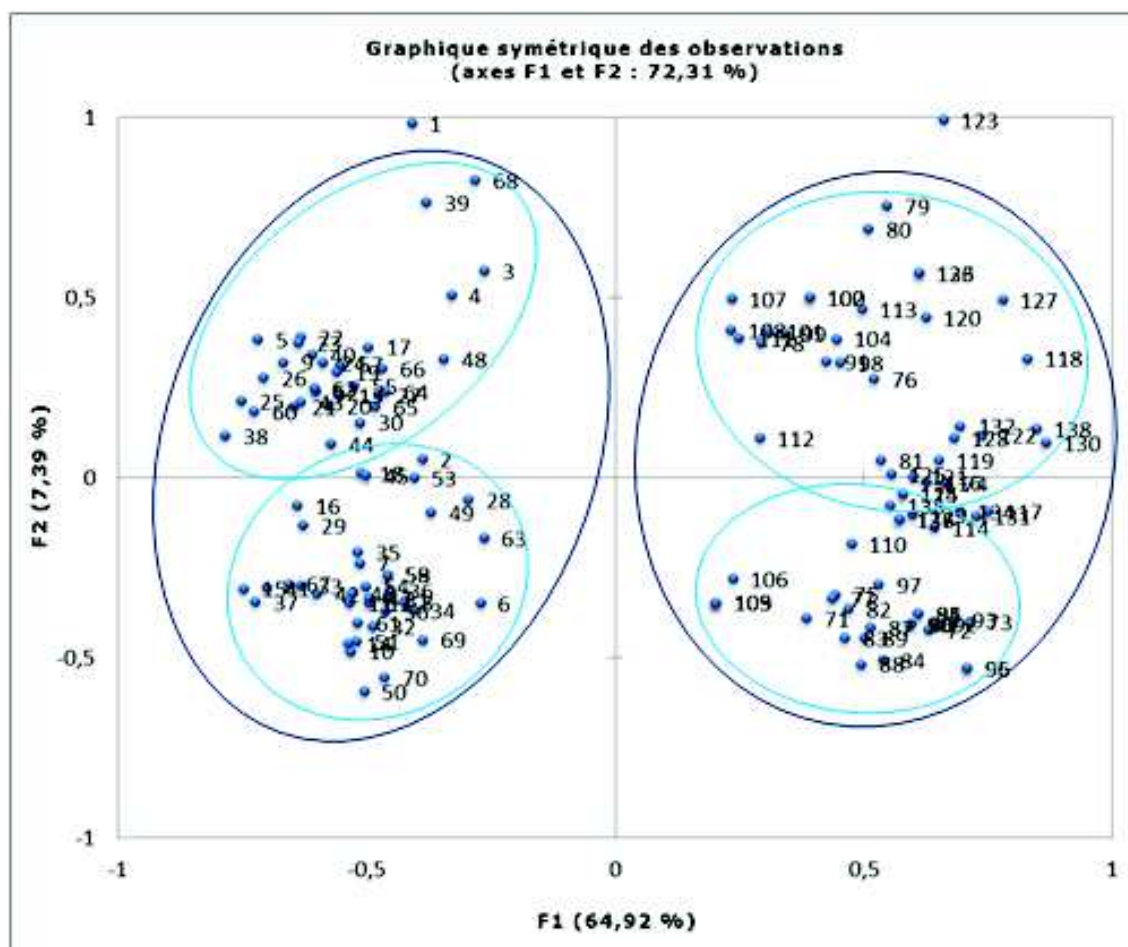


Figure 29 : Structuration des individus enquêtés selon les variables ethnobotaniques et agronomiques sur le plan défini par les axes 1 et 2 de l'Analyse des Correspondances Multiples (ACM).

3.2.3. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

Le résultat de la classification ascendante hiérarchique confirme les résultats de l'ACM avec une nette séparation des individus questionnés dans le nord du Pays (Kabylie (Reg1)) de ceux originaire du sud du pays (Tidikelt (Reg2) et Djanet (Reg3)). L'analyse du dendrogramme (figure 30) a permis de distinguer deux grandes classes. La première classe est représentée par les paysans cultivant le niébé dans les oasis du Sahara sous les palmiers et l'utilisent comme fourrage, le niébé dans ces régions est connu sous le nom de *Tadelaght* et il est semé plus tôt en raison des températures favorables dès le mois de mars. Par contre, la floraison et la récolte sont assez tardives et les produits chimiques (engrais et traitement phytosanitaires) sont moins utilisés par rapport à la Kabylie. La deuxième classe est représentée par les paysans Kabyles qui connaissent le niébé sous le nom de *Loubia Kabyle* et partagent les mêmes traditions de culture du niébé, en le cultivant au milieu des jardins potagers, avec un semis plus tardif à partir d'avril et une floraison et une récolte plus précoce par rapport au niébé cultivé dans les oasis du Sahara.

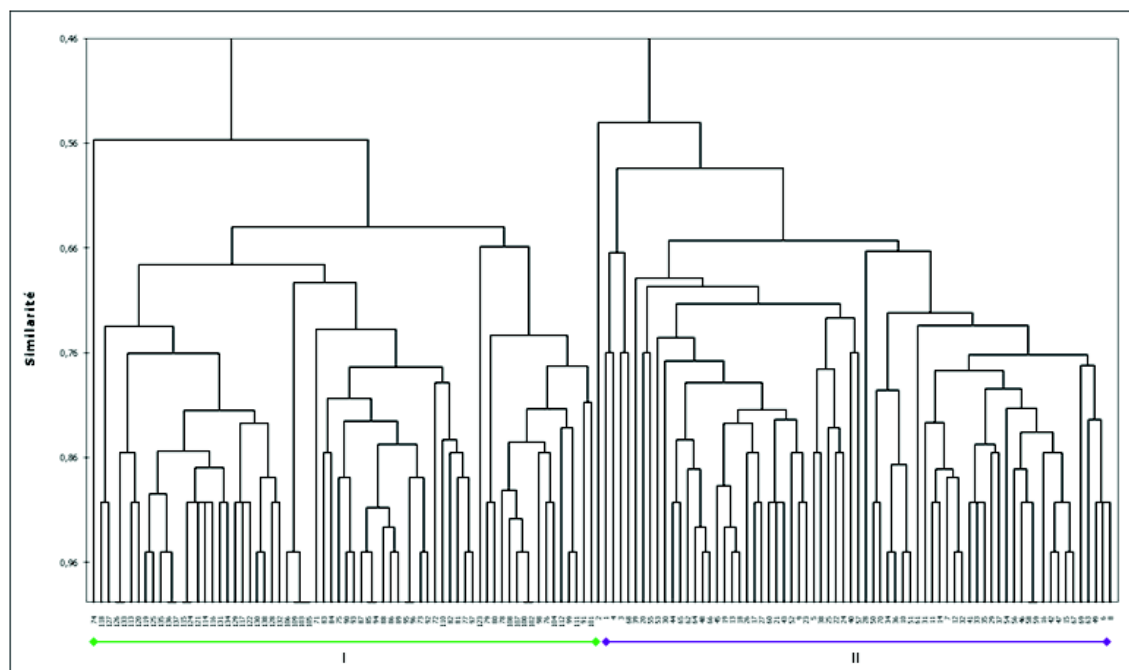


Figure 30. Classification Hiérarchique Ascendante des 138 individus questionnés selon les informations ethnobotaniques et agronomiques suivant le critère d'agrégation de Ward.

4. DISCUSSION

4.1. PROSPECTION ET COLLECTE

Les missions de prospection et de collecte ont permis de délimiter l'aire de répartition du niébé en Algérie. Dans le nord du pays, cette espèce a été identifiée uniquement dans la Kabylie et dans l'extrême nord est dans la région d'El Kala. Dans la région de Tizi-Ouzou en Kabylie, il est courant de collecter plusieurs accessions dans un même village, alors que dans la région de Béjaia, peu de paysans cultivant le niébé ont été identifiés. Ceci montre la richesse de la région de Tizi-Ouzou par rapport à Béjaia concernant cette ressource.

Dans la vallée du M'zab, le niébé n'est pas du tout connu. Ce n'est qu'en descendant jusqu'à la région de Metlili dans le sud de la Wilaya de Ghardaïa que des accessions ont été identifiées. Elles semblent être introduites à partir du Gourara et du Touat par des ouvriers agricoles (saisonniers) de ces régions. Par contre, Echikh *et al.* (1997) ont défini lors de prospections réalisées en Algérie entre 1993 et 1995, la limite nord de l'aire de culture du *Tadelaght* comme étant l'oasis d'El Goléa où la légumineuse n'est cultivée que dans des jardins appartenant à des familles originaires du Touat et particulièrement de Timimoun. Cela a été expliqué par le déplacement des graines avec les ouvriers. Le niébé a été aussi localisé, dans les oasis de Gourara, Touat, Tidikelt et la Saoura (le sud-ouest de l'Algérie) et dans les oasis de Tassili N'ajjer et du Hoggar (le sud-est). Parmi les régions identifiées comme étant des lieux de culture du niébé, seule la région du Hoggar n'a pas encore été prospectée.

Un total de 121 accessions a été collecté pour mettre en place une collection représentative de la diversité de cette culture en Algérie. Sur chacun des sites prospectés, plusieurs types différents ont été identifiés. Nous définissons un 'morphotype' comme un groupe d'individus présentant des caractéristiques morphologiques ou agronomiques suffisamment remarquables pour le différencier des autres. Les caractéristiques des graines et des gousses sont très diversifiées chez les formes cultivées de niébé. Elles sont largement utilisées pour décrire les cultivars (Piper, 1912 ; Pasquet et Fotso, 1994) et identifier les cultigrupes (Pasquet, 1996).

Le niébé présente en Algérie une grande variabilité morphologique et de nombreuses formes différentes ont été recensées. Une grande diversité morphologique des graines a été observée à travers les régions du pays. Les résultats ont montré de grandes distinctions entre les régions. L'analyse statistique de l'ensemble des données morphologiques a permis d'estimer la variabilité génétique qui existe entre les différentes accessions du niébé étudiées. Les résultats de l'analyse des correspondances multiples (ACM) et l'analyse hiérarchique ascendante (ACH) ont fait ressortir l'opposition des accessions collectées dans le nord (la Kabylie et la région d'El Kala) aux accessions collectées dans les oasis du Sahara.

Les résultats de l'ACM ont opposé les morphotypes originaires des oasis du Sahara aux morphotypes originaires du nord du pays, sauf quelques exceptions pour les formes à graines crèmes et à œil noir collectées dans le sud (NAG5, NAT9 et NB13), qu'on trouve regroupées avec les formes du nord et les formes collectées dans la région de Djanet (ND1, ND6, ND7 et ND3), présentant des particularités par rapport aux autres formes du Sahara.

Les résultats de l'ACM et de l'ACH ont pu séparer plusieurs morphotypes bien différenciés et répandus dans certaines régions. Le premier morphotype, appelé *Loubia kabyle*, a été identifié au nord dans la région de Kabylie ; il est caractérisé par des graines de formes réniformes ou rhomboïdes, de couleur crème, avec un œil noir entourant le hile et à tégument lisse à rugueux et rugueux à ridé. Ce morphotype prédomine en Kabylie. Le *Loubia kabyle* ou *Haricot kabyle* est localisé dans des villages suffisamment isolés par les massifs montagneux où les cultures vivrières traditionnelles sont encore conservées.

Dans ces régions, le niébé est cultivé dans les jardins familiaux avec d'autres légumes potagères. Ce morphotype a été identifié aussi dans la région d'El Kala. Quelques accessions correspondantes à ce morphotype ont été localisées dans les régions du Gourara, Touat et Béchar, mais elles sont caractérisées par des graines plus petites et un poids de cent graines moins élevé que les graines collectées dans le nord. Ces accessions semblent être introduites dans les oasis du sud à partir du nord du pays ; elles sont le résultat de plusieurs années de sélection naturelle et d'adaptation aux conditions locales. Le deuxième morphotype, caractérisé par des graines de couleur crème, à œil brun ou

brun large et texture lisse à rugueuse, a été localisé dans la région d'El Kala sous le nom vernaculaire *Loubia arebi*. Deux accessions de ce morphotype ont été également identifiées en Kabylie. Le niébé, ancré dans les coutumes culinaires de la Berbérie ancienne, garde toute sa valeur dans la région d'El Kala, car malgré sa faible demande en milieu urbain, le monde rural l'apprécie à tel point qu'il le cultive entre les rangs de la culture principale génératrice de revenus qu'est l'arachide. Le niébé semble être une culture vivrière ancestrale de cette région. En effet, sa culture semble remonter plus loin dans le temps que la culture d'arachide.

Les accessions originaires du nord du pays se caractérisent par des graines de grandes taille et un poids de cent graines plus important par rapport à celles originaires du sud. Les plus grandes graines ont été identifiées chez les morphotypes collectées en Kabylie, suivie des accessions collectées dans la région d'El Kala. Le poids de cent graines le plus important a été identifié en Kabylie.

Dans les oasis du Sahara, le niébé est appelé localement *Tadelaght*. Les morphotypes à tégument lisse de couleur noire, beige-brune et brune avec absence d'un œil entourant le hile de la graine sont les plus présentes dans les oasis du Sahara. Le morphotype à graines de couleur noire domine dans les oasis du sud-ouest, par contre il est absent dans les oasis de Djanet (sud-est). Quelques accessions à graines noires et tégument lisse ont été identifiées aussi en Kabylie, mais elles sont caractérisées par une taille de graines et un poids de cent graines plus élevés par rapport aux mêmes morphotypes cultivés dans les oasis du sud-ouest du Sahara. Ces graines ont été probablement introduites du sud du pays et se sont adaptées avec le temps aux nouvelles conditions agro-écologiques. Les morphotypes à graines beige-brunes et brunes prédominent dans les oasis du sud notamment dans la région du Gourara, Béchar, Ghardaïa, Touat, Djanet et Tidikelt. Ce morphotype a été identifié dans le nord du pays uniquement dans la région d'El Kala. Les formes collectées dans les oasis du sud sont caractérisées par un poids de cent graines assez faible et de graines de petites tailles par rapport à celles du nord. Les plus petites graines ont été remarquées dans les régions de Gourara, Touat, Tidikelt, Béchar et Ghardaïa. Les oasis de Djanet se sont différenciées des autres oasis du Sahara par la taille de leurs graines qui semblent assez variables selon le morphotype étudié.

La forme globulaire a été identifiée dans la région d'El Kala, Ghardaïa et Djanet. La texture des téguments des graines des régions du sud est généralement lisse. Dans les oasis du Sahara, la forme ovoïde est la plus présente. Cependant, cette forme est présente seulement avec une petite fréquence dans les oasis de Djanet. Dans le nord du pays, elle a été aussi identifiée dans la région d'El Kala et en Kabylie. Des graines de forme rhomboïde et réniforme ont été aussi identifiées en Kabylie et dans la région d'El Kala.

Six écotypes se sont avérés très rares; il s'agit des morphotypes à graines crème avec un œil brun large rencontrés en Kabylie et dans la région d'El Kala et les morphotypes à graines brunes-olive identifiés uniquement chez trois paysans dans les régions d'El Goléa, Gourara et Djanet. Les formes à graines brunes-ocre se rencontrent uniquement dans la région de Djanet et la forme à graines de couleur holstein noire et blanche a été localisée chez un seul paysan dans la région de Aït Smail en Kabylie. Les accessions à graines blanches et à graines beiges tachetées ont été identifiées uniquement dans la région de Djanet. La région de Djanet est caractérisée par des morphotypes spécifiques qu'on ne retrouve pas dans les autres régions du pays.

Dans les oasis du Sahara, l'agriculture est de type familial, avec des plantations ne dépassant pas quelques hectares. Une grande diversité de plantes cultivées est maintenue au sein des oasis en sous étage des palmiers dattiers ou des arbres fruitiers ou sur les

bords des séguias. Le *Tadelaght* est semé en association avec d'autres légumes et du mil (*Pennisetum glaucum* L.) ou cultivé à proximité des planches de luzerne ou d'arachides. Le niébé peut être également semé sur des parcelles dont on vient de faucher les céréales.

Une corrélation négative semble lier la couleur de la graine à la couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine, au poids de cent graines et à la texture et la longueur de la graine. En effet, les graines à couleur crème présentent un œil autour du hile de couleur noire, brune ou brune large et une texture lisse à rugueuse ou rugueuse à ridée, un poids de cent graines élevé et des graines de grandes tailles. Les graines de couleur noire, beige-brune et brune sont dépourvues d'œil entourant le hile de la graine et caractérisées par une texture lisse et de petites graines avec un poids de cent graines assez faible par rapport aux accessions du nord. La couleur n'est pas répartie uniformément sur la graine ; elle concerne la zone de l'œil qui entoure le hile (Fery, 1985). La texture du tégument est un caractère important dans la détermination de l'acceptabilité des variétés de niébé dans différentes régions. Une enveloppe de la graine rugueuse est préférée dans l'Afrique de l'ouest et l'Afrique centrale, car elle permet un retrait facile de l'enveloppe de la graine lors de la cuisson qui est une caractéristique importante pour les préparations alimentaires (Singh et Ishiyaku, 2000 ; Drabo et al., 1984). D'autre part, un tégument lisse est préféré dans l'est de l'Afrique ainsi que dans certaines parties de l'Amérique du Sud où le niébé est consommé comme haricots bouillis sans enlever le tégument (Singh et Ishiyaku, 2000).

D'une manière générale, l'analyse de la morphologie des graines collectées lors des prospections, a montré une grande diversité des morphotypes collectés dans les oasis du Sahara par rapport à ceux collectés dans la région de Kabylie. Ceci est probablement dû à la présence d'une érosion génétique plus avancée dans le nord du pays. Echikh (2000) a fait la même constatation en signalant que le niébé a subi une importante érosion particulièrement dans le nord du pays et que dans le sud (Oasis), l'érosion existe mais de façon moins accélérée.

4.2. ENQUÊTE

4.2.1. Étude ethnobotanique et agronomique

4.2.1.1. Étude ethnobotanique

L'âge des individus, pratiquant la culture du niébé dans les différentes régions enquêtées, est en général très avancé. En effet, les paysans âgés possèdent une connaissance rare des anciennes cultures, qui leur a probablement été léguée par les anciennes générations. De même, dans les villages du sud de l'Italie où la culture du niébé est pratiquée traditionnellement, les agriculteurs du niébé sont relativement vieux et les plus jeunes membres de la famille sont principalement employés dans d'autres secteurs de production, ce qui menace le maintien de cette culture et les savoir-faire qui lui sont liés (Negri et al., 2000).

Dans les trois régions étudiées, des femmes âgées nous ont été désignées pour répondre à nos questions concernant les savoir-faire liés à la culture du niébé. Celles-ci semblent être plus attachées à la culture du niébé et la conservation de ses graines. Cela s'explique par le fait que le niébé est une culture vivrière pratiquée à petite échelle dans les jardins familiaux à des fins alimentaires et que sa culture est une tradition gardée surtout par les femmes. En plus, ce sont elles qui décident généralement de ce qui est cultivé dans

le jardin domestique, car dans bon nombre de sociétés, elles sont responsables au premier chef de l'alimentation et la santé de la famille.

Les femmes préservent le savoir traditionnel sur les techniques culturelles adaptées au milieu, sur les variétés locales et leur utilisation pour la préparation de plats traditionnels ou la fabrication de produits divers. Elles produisent elles-mêmes leur semence, en prenant soin de garder toujours une partie des graines récoltées pour les semer l'année d'après, c'est ce qui a aidé à la préservation de cette ressource à travers les générations. Dans de nombreux pays, les femmes sont considérées comme les gardiennes de la diversité phytogénétique. Au Bénin, les superficies du niébé s'amenuisent ainsi que l'intérêt des hommes pour cette culture qui est aujourd'hui majoritairement assurée par les femmes (Baco et al., 2008).

La majorité des individus interrogés sont propriétaires d'une petite surface de terre et cultivent le niébé sur des superficies assez réduites, dans leur jardin familial. Dans les trois régions étudiées, le niébé est considéré comme une culture vivrière et cultivé à petite échelle. Pour une grande partie des paysans, la production du niébé est destinée uniquement à l'auto- consommation. Quant à la commercialisation, il n'y a qu'un petit nombre d'agriculteurs qui ont recours à cette pratique. Les consommateurs ont donc tendance à s'approvisionner en produits importés, ce qui menace la conservation de cette ressource dans ces régions. L'importation de graines pour la consommation a été signalée à Djanet (en provenance du Niger) et en Kabylie (en provenance des États-Unis et de l'Argentine).

Dans les différentes régions enquêtées, le niébé est consommé sous plusieurs formes. Les gousses vertes sont utilisées comme légumes tandis que les graines sèches sont utilisées dans une variété de préparations alimentaires. Les fanes sont utilisées comme fourrage pour le bétail en raison de leur haute teneur en protéines. Le niébé à des fins fourragères est plus utilisé par les paysans de la région de Tidikelt et de Djanet par rapport à ceux de la Kabylie. Les fanes sèches sont données aux animaux, dans les oasis du Sahara où le fourrage devient une denrée rare.

En Afrique, on cultive le niébé avant tout pour ses graines sèches, cuisinées sous les formes les plus diverses. Mais, dans de nombreuses régions, on consomme aussi ses jeunes feuilles, fraîches ou séchées et ses gousses immatures (Pasquet et Baudoin, 1997). Au Botswana et au Zimbabwe, on pétrit les feuilles de niébé cuites à l'eau et la pulpe ainsi obtenue est compactée en petites boulettes, que l'on fait ensuite sécher pour les conserver (Brink et Belay, 2006). Dans la partie sud-est des États-Unis, des parties de l'Afrique de l'Ouest, en Asie et dans les Caraïbes, la consommation des graines fraîches et des gousses vertes est préférée aux graines sèches (Nielsen et al., 1997; Ahenkora et al., 1998). Au Nigeria, en règle générale, les gousses fraîches immatures et leurs graines sont consommées comme un légume (Uguru, 1996). Au Sénégal, Les gousses vertes sont d'abord bouillies entières, puis les graines cuites sont extraites des gousses pour les consommer. Les racines sont parfois consommées en Éthiopie et au Soudan (Brink et Belay, 2006).

Le niébé sert de fourrage en Afrique de l'Ouest, en Asie (en Inde surtout) et en Australie ; soit les animaux le broutent directement, soit il est coupé et mélangé à des céréales sèches destinées à l'alimentation du bétail. Aux États-Unis et ailleurs, le niébé se cultive comme engrais vert et plante de couverture (Singh et Tarawali 1997).

En Algérie, le niébé est utilisé pour la préparation de plusieurs plats traditionnels. En Kabylie, la graine sèche est consommée dans plusieurs plats locaux, comme le couscous, le berkoukes, el-asbane et el-djouaz.

La période de consommation est en fonction du stade de récolte du niébé en vert ou en sec. En Kabylie, le couscous à base de graines de niébé est consommé en période hivernale. Le niébé est utilisé aussi pour la préparation de plat de fête durant la célébration traditionnelle de « Yennayer » (nouvel an berbère). D'autre part, le niébé cuit à la vapeur et le ragoût à base de gousses vertes de niébé, sont consommés en période d'été, lorsque les gousses atteignent leur maturité.

Dans les oasis du Sahara « le Twasse » (plat traditionnel local qui se prépare en bouillant les graines vertes du niébé dans l'eau et consommées seules) est le plat principal à base de niébé chez la totalité des individus enquêtés. En association avec ce plat, le niébé est utilisé aussi dans la préparation du couscous, du djouaz et du berkoukes.

Selon les écotypes recensés en Algérie, des préférences culinaires pour tel ou tel type de graines ont été signalées. Les graines de couleur claire sont plus appréciées par rapport aux graines noires qui ont tendance à noircir les sauces. Cela a été le cas aussi dans le sud de l'Italie où le type de niébé à graines blanches est préféré par certains parce qu'il ne teint pas l'eau avec laquelle il est cuit (Negri *et al.*, 2000). Cependant, les savoirs traditionnels prêtent aux variétés à graines noires des vertus médicinales : les graines noires sont préconisées contre les refroidissements et les maux de gorge et comme fortifiant pour les femmes qui viennent d'accoucher (Echikh, 2000). Les graines beiges sont réservées aux invités et sont servies mélangées aux lentilles et aux fèves locales. Contrairement au *Tadelaght* à graines noires, on ne prête pas aux graines beiges de vertu médicinale (Echikh, 2000).

Dans de nombreuses régions d'Afrique, on fait cuire les graines mûres et on les consomme seules ou avec des légumes, des épices et souvent de l'huile de palme, pour produire une soupe de haricots épaisse, qui accompagne l'aliment de base (manioc, igname, plantain) (Brink et Belay, 2006).

Au Sénégal, les feuilles servent à préparer des sauces pour le couscous de mil. Le niébé est consommé soit en gousse, soit écosé. Le 'Akara', un beignet à base de farine de niébé yest assez répandu (Tradieu et Sène, 1966). Le couscous à base de niébé est préparé également par une grande partie des villageois des régions nord du Sénégal (Cissé et Hall, 2003).

Différents noms vernaculaires sont utilisés pour désigner le niébé en Algérie. Le *Loubia kabyle* ou le *haricot kabyle* est le nom qui revient le plus en Kabylie avec plusieurs synonymes : *Louviante thavalith*, *Louviante mlaayoune*, *Louvia mthit taverkant*. Le nom arabe *Loubia* désignait à l'origine le niébé (genre *Vigna*) et a été transposé au haricot lorsque celui-ci s'est substitué à la précédente (INRAA, 2006). Le *Tadelaght* est le nom le plus répandu dans les oasis du Sahara. Dans la région de Djanet, Le niébé local est connu sous le nom de *Tadelaght* et le nom *Tanzant* est utilisé par les populations introduites du Niger. En plus du nom *Tadelaght*, Echikh (2000) a signalé l'utilisation des noms *Tidelaghin* ou *Adelghan* pour désigner le niébé dans les oasis du Sahara. Chevalier (1932) a cité la présence de formes sahariennes sous le nom de *Vigna catjang* (L.) Walp., ou *Lubia* ou *Adelghan* dans les oasis du Sahara. Ces formes cultivées sont également citées par Trabut (1935) dans son répertoire des noms indigènes des plantes sous le nom berbère de *Tadelaght*. Dans les palmeraies d'Adrar, du Hoggar et du Tassili n'ajjer, la plante de *V. unguiculata* est connue en tamachek sous les noms *Tanzant* ou *Tadellak* (Chevalier, 1944).

L'origine géographique des écotypes locaux du niébé est méconnue par la totalité des individus interrogés dans les trois régions étudiées. Ils savent seulement qu'il a été cultivé

par leurs ancêtres depuis fort longtemps et qu'il a toujours existé dans la région, sans donner des précisions sur son origine et la période exacte de son introduction.

Le niébé a été signalé dans les oasis du Sahara algérien par Chevalier (1932) et Trabut (1935). L'existence de *V. unguiculata* cultivé, a été signalée aussi par Chevalier (1944) dans les palmeraies d'Adrar, du Hoggar et du Tassili n'ajjer.

Le fait que le nom arabe *L. oubia* était utilisé à l'origine pour désigner le niébé et qu'il a été transposé au haricot par la suite (INRAA, 2006), nous fait penser que le niébé a été introduit avant le haricot en Algérie. Dans le Bassin Méditerranéen, notamment, dans les régions du sud de l'Italie, le niébé et le haricot communs sont souvent considérés par les fermiers locaux comme étant la même plante, au point que même aujourd'hui, ils sèment ces deux plantes en culture mixte dans les jardins potagers (Padulosi *et al.*, 1987 ; Laghetti *et al.*, 1990 ; Negri *et al.*, 2000).

Selon Chevalier (1944), les Grecs ont obtenu les graines du niébé, à partir des populations de l'Afrique du nord, qui ont eux-mêmes connu la plante à travers leur contact avec les Arabes, ce qui nous laisse supposer que le niébé était introduit dans le sud de l'Europe à partir de l'Afrique du nord et notamment de l'Algérie.

Quelques accessions de niébé introduites à partir du Niger, du Soudan et de l'Arabie Saoudite ont été signalées dans les oasis du sud. La majorité des écotypes de niébé introduits sont d'origine nigérienne, issus des échanges commerciaux entre les populations Touarègues du Niger et celles de Djanet.

Le niébé est maintenu en culture à des fins alimentaires, pour la conservation de cette ressource, pour la facilité de sa culture, ou pour son goût. La culture du niébé pour des fins alimentaires constitue l'objectif le plus recherché par les paysans, ceci est dû à certaines traditions culinaires adoptées dans les régions enquêtées qui permettent le maintien de la culture du niébé et la conservation du patrimoine laissé par les ancêtres. La majorité des paysans questionnés pensent que cette culture est en danger et qu'elle ne sera pas préservée par les générations futures ce qui constitue une véritable menace pour ces ressources phytogénétiques marginalisées qui doivent être préservées et conservées. La plupart de ces individus sont âgés et pensent que les jeunes ont tendance à laisser tout ce qui est traditionnel et que leurs centres d'intérêt sont très loin de l'agriculture. Ils déclarent continuer de cultiver le niébé dans les années à venir, pour eux, c'est une culture qui ne peut pas être abandonnée car elle constitue une partie de leurs ressources, de leurs traditions et de leur culture.

La multiplication de leur propre semence constitue la principale source de provenance du niébé cultivé. En effet, les paysans prennent soin de garder toujours une partie de leurs graines pour la semer l'année d'après. Une petite quantité est achetée au marché et une autre provient de la famille ou des voisins. La semence est échangée ou offerte par solidarité, n'importe qui peut en obtenir gratuitement, à condition qu'il en exprime le besoin, d'où la difficulté de discriminer parfois les accessions d'une exploitation agricole à l'autre. C'est une tradition fortement ancrée chez la plupart des paysans. C'est le cas aussi au Nigéria, où les échanges de variétés entre les paysans se font sans difficulté et sans barrière. Ils se font au sein d'un même village ou entre villes. Les semences sont échangées librement entre les agriculteurs au sein d'une communauté pendant la saison de semis (Uguru, 1998).

4.2.1.2. Étude agronomique

Les résultats de l'ACM font ressortir l'opposition des individus pratiquant l'élevage en réalisant une à plusieurs coupes durant le cycle de la plante et qui consomment les graines, les gousses vertes et utilisent les fanes comme fourrage aux individus qui ne pratiquent pas d'élevage, ne réalisent aucune coupe sur la plante et qui n'utilisent pas le niébé à des fins fourragères.

La majorité des individus enquêtés et qui pratiquent l'élevage utilisent le niébé pour l'alimentation des animaux, soit comme fourrage issu de la coupe du niébé avant la floraison ou de l'arrachage des plants du niébé après la production des gousses. Les individus interrogés dans la région de Tidikelt sont les seuls à réaliser plus de deux coupes sur les plantes du niébé. Par contre, en Kabylie, les résidus de la culture après la récolte sont les plus utilisés comme fourrage pour l'alimentation animale. Un élevage familial est pratiqué par une grande partie des paysans cultivant le niébé dans les trois régions étudiées, avec une majorité d'individus pratiquant l'élevage dans les oasis de Djanet.

En Kabylie, les paysans enquêtés pratiquent un petit élevage familial avec un troupeau de petite taille. Dans les zones de montagnes, l'élevage de chèvres et de moutons est prédominant, et jouent un rôle socio-économique important. Le système agricole dans le Sahara associe l'élevage d'ovins, de caprins et de bovins en palmeraie avec la pratique de la phoeniculture et des sous-cultures irriguées.

Les associations agriculture-élevage valorisent les ressources rares comme l'espace cultivable et les ressources en eau. La pratique de l'élevage familial oasisien demande la culture de plusieurs espèces fourragères permettant de satisfaire les besoins du cheptel tout au long de l'année.

Le niébé joue un rôle particulièrement critique dans l'alimentation des animaux pendant la saison sèche dans de nombreuses régions de l'Afrique de l'Ouest (Singh et Tarawali, 1997). Il intervient dans l'alimentation du bétail grâce à ses fanes aisément conservées toute la saison sèche et qui ont une haute valeur fourragère (Breman et De Ridder, 1991). La valeur nutritive des fanes de niébé est comparable à celle des autres légumineuses fourragères (Tarawali *et al.*, 1997).

Les résultats de l'ACM oppose les individus de Kabylie qui sèment le niébé tardivement entre avril et mai, avec une floraison des plantes un mois après le semis et qui récoltent les gousses entre juin et septembre aux individus interrogés dans les oasis du Sahara qui sèment le niébé plus tôt (février-mars), avec une floraison plus tardive entre un mois et demi et deux mois ou plus de deux mois après le semis et qui récoltent les gousses entre juillet et octobre.

En effet, le semis du niébé est réalisé plus tôt dans les oasis du Sahara entre février et mars pour la majorité des individus questionnés. Dans cette région, la température à cette époque de l'année est favorable à l'installation de cette culture qui est considérée comme une plante de régions chaudes et sensible au froid. Dans les oasis du Sahara, Echikh (2000) a constaté une différence de précocité du semis entre les écotypes à graines beiges considérées comme précoces et semées dès le mois d'avril et récoltées en juin et en juillet et les écotypes à graines noires semées en juillet.

En Kabylie, le semis se fait plus tardivement (entre avril et mai). Cela est dû au climat de la région caractérisé par un été chaud qui s'étend de la mi-mai jusqu'à la mi-septembre et un hiver rigoureux et froid avec une température du sol qui commence à augmenter vers la fin Mars. Le niébé est une plante très sensible au froid et exige des températures de 15 et 30°C pour sa germination et entre 25 à 35°C pendant son cycle végétatif (**Ismail et Hall,**

2002). Une température du sol inférieure à 20° C réduit la levée du niébé en conditions de plein champ (Ismail *et al.*, 1997).

Généralement en Kabylie, les plantes de niébé fleurissent un mois à un mois et demi après le semis. Dans les oasis du sud, la floraison semble être plus tardive, la majorité des individus questionnés dans la région de Tidikelt ont déclaré que leurs plantes fleurissent un mois et demi à deux mois après le semis et 50 % dans la région de Djanet ont signalé une floraison du niébé jusqu'à plus de deux mois après le semis. Une grande variabilité dans les conditions climatiques des régions enquêtées (température et photopériode) explique cette variation. Le démarrage de la floraison est fonction de la température et de la photopériode (Summerfield *et al.*, 1985). Durant la saison de culture du niébé, les oasis du Sahara sont caractérisées par des températures plus élevées et une longueur du jour plus courte par rapport aux régions du nord du pays.

Une étude de caractérisation agro-morphologique réalisée dans le nord de l'Algérie (Staouali) a montré que les écotypes du nord originaires d'El Kala caractérisées par des graines crèmes à œil brun et crèmes à œil noir ont présenté une floraison plus précoce par rapport aux écotypes à graines de couleur noires et beige-brune en provenance des oasis du Sahara (Ghalmi *et al.*, 2005).

La date de récolte est liée à l'époque de floraison. Le niébé est récolté lorsque les gousses sont complètement mûres et sèches.

Les graines n'arrivent pas à maturité au même moment du fait d'une floraison étalée. La récolte du niébé est manuelle et s'effectue généralement en plusieurs étapes (récolte en vert et plusieurs récoltes en sec). La récolte des gousses matures est réalisée entre juin et septembre en Kabylie pour la majorité des cas. La récolte en sec dans les oasis est échelonnée de Juillet à octobre. La récolte s'arrête avec l'arrivée du froid.

Selon les individus questionnés, les plantes de niébé cultivées sont toutes à croissance indéterminée, dans ce cas, tant que les températures restent favorables, les plantes de niébé continuent à donner des gousses.

Un essai de comportement réalisé dans la région de Kabylie a montré une floraison entre 40 à 73 jours après le semis et un début de récolte après 110 jours pour des accessions *Loubia kabyle* (graines crème à œil noir) (Ghanem et Ou-Otmane, 1998), ce qui correspond aux informations recueillies lors de l'enquête réalisée en Kabylie.

L'ACM a mis en évidence l'opposition des systèmes de culture intégrant le niébé, prédominants en Kabylie (cultures potagères en association avec l'arboriculture fruitière rustique) au système de culture oasisien pratiqué dans les régions de Djanet et de Tidikelt qui associe la culture du niébé avec d'autres légumes en sous étages à l'ombre des palmiers dattier et de différents arbres fruitiers. Le niébé est généralement cultivé en Kabylie dans les jardins familiaux en association avec d'autres cultures légumières. En plus des cultures potagères les agriculteurs cultivent des arbres fruitiers représentés par des espèces rustiques caractéristiques de la région comme l'olivier et le figuier. Les Kabyles pratiquent principalement l'agriculture et l'arboriculture et, parfois, l'élevage. Les cultures potagères occupent les femmes de mai à octobre et fournissent les légumes pour toute l'année (tomates, piments, haricots, maïs, courges, oignons et navets). Les hommes cultivent les céréales dans les champs, les femmes y participent activement par le sarclage, la moisson, et s'occupent encore aussi bien des cultures potagères.

La culture du niébé dans les oasis est pratiquée sous les palmiers dattiers en association avec d'autres cultures potagères et arbres fruitiers. Le palmier dattier est la spéculacion la plus cultivée dans la région et ensuite viennent les céréales (mil, sorgho,

orge, blé), l'arachide, la luzerne, l'oignon, l'ail, les cucurbitacées (courge, potiron, pastèque, melon..) et autres légumineuses (petit pois, fève, lentille...) (Ozenda, 1991). Une dizaine d'espèces d'arbres se rencontrent dans les oasis, dont le plus important est l'abricotier. Viennent ensuite, le figuier, le grenadier, l'olivier cultivé dans les oasis du nord, les orangers, citronniers, caroubiers et enfin la vigne, encore plantée dans la partie septentrionale (Ozenda, 1991). Dans la région de Djanet, le mil et l'arachide sont semés au même moment que le niébé.

L'eau est plus disponible en Kabylie où la pluviométrie est plus importante par rapport aux régions du Sahara qui sont caractérisées par un climat aride. Cependant, la disponibilité de l'eau a été aussi signalée dans les régions de Tidikelt et Djanet, où le niébé est cultivé sous les palmeraies. Bien que l'existence de source soit signalée dans le passé dans la région de Djanet, seul le mode d'obtention d'eau par des puits subsistent (Battesti, 2005). Des puits de plus en plus nombreux sont creusés dans les oasis de Djanet. Le mode d'alimentation en eau dans cette région est très variable : utilisation des crues des oueds, captage des sources amenées aux cultures par des conduites souterraines, sources artésiennes ou puits (Ozenda, 1991). Dans le Tidikelt, le système de culture des oasis est l'irrigation à partir des foggaras qui captent l'aquifère superficielle de l'albien dont le drainage des eaux pour l'irrigation se fait par fossé à ciel ouvert. Le fonctionnement des foggaras est favorisé par la présence d'une pente en direction de la palmeraie. Aujourd'hui ce système de culture est en déclin pour des problèmes d'entretien des foggaras et de rabattement du niveau de la nappe provoqué par les nouveaux périmètres irrigués par pivot (Ziza, 2006).

La méthode d'irrigation la plus utilisée dans les oasis est l'irrigation à la raie. Le moyen d'irrigation en Kabylie est classique limité parfois à un simple arrosage, parfois à l'aide d'un récipient, c'est donc une sorte d'irrigation économique. Ceci est probablement dû aux petites surfaces cultivées et à l'absence d'équipement moderne dans les régions de montagnes. L'irrigation par aspersion a été aussi signalée en Kabylie, là où le problème de l'eau ne se pose pas.

La culture du niébé est traditionnelle dans les différentes régions enquêtées. Une fertilisation organique est appliquée par la majorité des individus interrogés. En Kabylie, l'utilisation d'engrais minéraux est plus importante par rapport aux autres régions du sud du pays. Cependant, les engrais organiques restent les plus utilisés par les différents paysans. Cela est dû à l'intégration du niébé dans le système agriculture-élevage dans les différentes régions étudiées, avec l'utilisation de ses fanes pour l'alimentation du bétail et le fumier comme engrais organique pour la plante. Au Sénégal, la culture du niébé ne donne lieu à aucune fumure minérale (parfois le niébé profite de la fumure de l'arachide ou du mil) (Cissé et Hall, 2003).

Dans les trois régions étudiées, la présence de nodules sur les racines de la plante a été signalée. En effet, le niébé est caractérisé par une capacité élevée de fixation de l'azote atmosphérique (Eloward et Hall, 1987) en comparaison à d'autres espèces légumières (Fery, 1990). Le niébé tire l'azote dont il a besoin de l'atmosphère. La fixation de l'azote est assurée par les Rhizobiums, des bactéries qui forment une symbiose avec les racines du niébé.

La préparation du sol dans les oasis du Sahara consiste chez la majorité des paysans en un grattage manuel superficiel et sans enfouissement des résidus. Ces sols sablonneux sont très déficitaires en azote et phosphore.

Parmi les maladies et ennemis causant le plus de dégâts chez le niébé, les champignons sont les plus cités en Kabylie. Ceci est dû à l'appartenance de la Kabylie

à l'étage bioclimatique subhumide, où les conditions (humidité et température) favorisent l'apparition de maladies fongiques.

Différents symptômes dus à des maladies attaquant le niébé ont été décrits par les paysans lors de nos enquêtes, nous citons le charbon noir, des chloroses sur feuilles, noircissement des gousses et tige, tâche blanche sur les feuilles. Malheureusement, ces symptômes ont été décrits par les paysans, sans qu'on puisse les observer sur le terrain et prélever des échantillons des plants atteints pour l'identification des différents pathogènes responsables de ces maladies.

Les insectes ravageurs constituent également un facteur important limitant la production du niébé, et ils peuvent causer la perte totale de la récolte en graines (Brink et Belay, 2006). Ils constituent une importante menace dans les régions de Tidikelt et de Djanet. Le puceron est le majeur ennemi des plantes de niébé dans ces régions. Le criquet a été aussi cité dans les oasis du Tidikelt comme un fléau pour le niébé lors des invasions acridiennes dans cette région.

Les résultats de l'ACM ont montré une opposition entre l'utilisation de produits phytosanitaires pour le traitement des maladies et ennemies attaquant le niébé en Kabylie (fongicides et insecticides) et l'absence d'utilisation de produits phytosanitaires dans les oasis du Sahara (Tidikelt et Djanet). Cela est dû à la préservation des techniques traditionnelles de cette culture et au prix relativement élevé des produits phytosanitaires dans ces régions isolées du Sahara.

Les résultats de l'ACM ont montré une nette opposition des paysans signalant l'absence de maladies ou d'insectes lors du stockage et qui n'utilisent aucune méthode de lutte, aux paysans indiquant la présence de bruches lors du stockage des graines et l'utilisation de la méthode de lutte traditionnelle. En effet, la bruche, *Callosobruchus maculatus*, est le principal ennemi du niébé emmagasiné dans les différentes régions enquêtées.

Des attaques sévères de cet insecte peuvent occasionner une perte totale des graines stockées. Ces graines peuvent toujours servir de semences, mais avec un pourcentage germinatif réduit. Des efforts de protection sont nécessaires si les graines doivent être conservées au-delà de 2 mois (Cissé et Hall, 2003).

La méthode traditionnelle utilisant la lutte biologique est le plus souvent réalisée par les femmes âgées. Elle est pratiquée par la majorité des individus interrogés, surtout dans les oasis du Sahara.

Elle fait appel à l'utilisation de produits naturels tels que l'huile d'olive et les fruits de piment rouge séchés, elle s'applique surtout aux graines de niébé destinées au semis. L'imbibition des graines avec de l'huile d'olive est utilisée surtout en Kabylie, alors que les paysans des oasis du Sahara préfèrent mélanger leurs graines avec du piment. Toutefois, 28,57 % des individus questionnés dans le Tidikelt et 26,92 % à Djanet n'utilisent aucun traitement pour lutter contre les bruches lors du stockage des graines de niébé.

Au Sénégal, plusieurs méthodes traditionnelles de protection contre les bruches sont disponibles au niveau paysan. Celles-ci incluent des méthodes préventives qui préconisent les récoltes précoces et régulières pour minimiser l'infestation initiale ; la séparation des graines saines de celles endommagées pendant le stockage ; le stockage des graines de niébé dans des greniers bien nettoyés et hermétiquement fermés ; le mélange des graines avec des fruits de piment ou leur imbibition avec de l'huile d'olive (Cissé et Hall, 2003). Dans certaines régions du Sénégal, les agriculteurs préfèrent mettre en vrac les gousses dans une case, sans aucun traitement ou les enfouir dans de la terre pouvant être mélangée ou

non avec de la poudre de piment. Cette méthode semble assez efficace (Tradieu et Sène, 1966).

5. CONCLUSION

5.1. PROSPECTION ET COLLECTE

Les missions de prospection et de collecte ont permis de délimiter l'aire de répartition du niébé en Algérie. Le niébé a été identifié dans plusieurs zones distinctes : le nord (Kabylie, El Kala), le sud-ouest, les oasis du Sahara (El Goléa, Adrar et Béchar) et au sud-est du pays (Djanet, Tamanrasset). Ces régions possèdent une richesse phytogénétique et une biodiversité végétale et animale très importante, associée à des traditions culturelles variées. On y trouve des techniques ancestrales en matière de conservation et de techniques agricoles. Les écotypes locaux de niébé, maintenus pendant plusieurs siècles dans des conditions écologiques différentes, ont pu accumuler une importante diversité génétique qui n'est que très peu étudiée.

Un total de 121 accessions a été collecté pour mettre en place une collection représentative de la diversité de cette culture en Algérie. Sur chacun des sites prospectés, plusieurs morphotypes différents ont été identifiés. Une grande diversité morphologique des graines a été observée à travers les régions du pays. Les résultats ont montré de grandes distinctions entre les régions.

Le morphotype le plus répandu en Kabylie est caractérisé par des graines de couleur crème, avec un œil noir et à tégument lisse à rugueux et rugueux à ridé et des formes réniformes ou rhomboïdes. Il est connu sous le nom local de *Loubia kabyle*. La région d'El Kala est caractérisée par des morphotypes connus sous le nom local de *Loubia arebi* à graines de couleur crème, à œil brun ou brun large et texture lisse à rugueuse. Les morphotypes appelés localement *Tadelaght* à tégument lisse, de couleur noire, beige-brune et brune avec absence d'un œil entourant le hile de la graine sont les plus répandus dans les oasis du Sahara. Des écotypes rares ont été aussi identifiés dans différentes régions du pays. Ainsi, la région de Djanet est caractérisée par des morphotypes spécifiques qu'on ne trouve pas dans les autres régions du pays.

Le nombre d'agriculteurs cultivant et conservant les écotypes locaux de niébé diminue considérablement en Algérie, il est devenu urgent de bien les identifier, afin d'entreprendre des actions urgentes de sauvegarde pour mieux les encadrer et les aider à conserver et à multiplier le matériel végétal dont ils disposent. Après avoir déterminé les limites écologiques d'extension des écotypes de niébé cultivés en Algérie, des collections du matériel collecté ont été mises en place à l'Institut Techniques des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI) et à l'École Nationale supérieure Agronomique (ENSA) d'Alger (conservation *ex situ*).

Il s'avère indispensable de caractériser et d'identifier les échantillons de graines collectées, et pour cela, des études de caractérisations agro-morphologiques sur le terrain et des caractérisations moléculaires au laboratoire seront nécessaires pour identifier les différents écotypes et les classer au sein des cultigrupes de *Vigna unguiculata*.

5.2. Enquête

Pour une meilleure évaluation et valorisation des écotypes locaux, des enquêtes ethnobotanique et agronomique ont été réalisées dans les agro-systèmes traditionnels de la Kabylie et des oasis du Sahara. Ces enquêtes ont permis d'évaluer le niveau de l'agro-diversité en identifiant les pratiques agricoles traditionnelles basées sur l'utilisation des écotypes locaux.

Dans les trois régions étudiées, on s'inquiète de plus en plus de voir les connaissances traditionnelles sur le niébé disparaître progressivement. Une bonne part de ces informations est détenue par des femmes âgées et les jeunes générations n'acquièrent pas toujours l'expérience de leurs aînés. La transmission de la connaissance des variétés locales en particulier, et du savoir-faire traditionnel en général, se fait de moins en moins. Ainsi des pratiques et des connaissances anciennes de grande valeur patrimoniale et identitaire se trouvent menacées de disparition.

Le niébé est considéré comme une culture vivrière, cultivée à petite échelle dans les jardins familiaux. Pour une grande partie des paysans, sa production est destinée uniquement à l'auto-consommation. Il est utilisé pour la préparation de plusieurs plats traditionnels algériens. Il est maintenu en culture surtout à des fins alimentaires. La majorité des paysans questionnés pensent que cette culture est en danger et qu'elle ne sera pas préservée par les jeunes générations qui ont tendance à ne pas suivre les traditions et qui ont des centres d'intérêt très loin de l'agriculture. Cette défection, qui a tendance à se généraliser constitue une véritable menace pour ces ressources marginalisées qui doivent être préservées et conservées.

Les renseignements sur l'introduction du niébé, son origine et la date de son introduction ont été difficiles à obtenir. L'origine africaine du niébé, nous laisse supposer son introduction en Algérie à partir des régions de l'Afrique lors des échanges et des déplacements des populations. Pour son ancienneté en Algérie, plusieurs auteurs ont mentionné que les romains et les grecs cultivaient déjà cette espèce et que leurs graines ont été obtenues à partir des populations de l'Afrique du Nord, notamment l'Algérie.

Le semis du niébé est plus précoce dans les oasis du Sahara et assez tardif en Kabylie. Par contre la floraison et la récolte sont plus précoces en Kabylie. Ceci, montre que le niébé peut recouvrir des zones agro-écologiques assez différentes.

Les informations ethnobotaniques et agronomiques recueillis lors de l'enquête, montre une nette opposition entre la culture du niébé en Kabylie et dans les oasis du Sahara (Tidikelt et Djanet).

CHAPITRE 3: CARACTÉRISATION AGRO-MORPHOLOGIQUE DE 28 ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ CULTIVÉS EN ALGÉRIE

1. INTRODUCTION

Le niébé, *Vigna unguiculata*, est largement cultivé en régions tropicales et dans des régions tempérées dont le bassin méditerranéen et le sud des USA (Elhers, 1997). En Algérie, cette espèce est marginalisée, considérée comme légumineuse vivrière cultivée uniquement pour l'autoconsommation.

Elle est cultivée dans différentes zones agro-écologiques (les montagnes de Kabylie, le littoral d'El Kala et les oasis du Sahara). Lors de missions de prospection, plusieurs formes ont été identifiées et collectées dans ces régions. En dépit de son importance en Algérie, la diversité génétique du niébé n'est que très peu connue, les études récentes et passées se sont attachées à l'identification uniquement de quelques accessions collectées (ne représentant pas la collection totale des niébés cultivés en Algérie) sur la base des traits morphologiques et physiologiques.

L'estimation de la variabilité génétique de notre collection est indispensable à la gestion, la conservation (*in situ* et *ex situ*) et l'utilisation efficaces de ces ressources phytogénétiques. L'identification génotypique et la classification au sein des collections sont des étapes fondamentales.

La diversité peut être évaluée par l'utilisation des marqueurs morphologiques (à travers les descripteurs) et génétiques (à travers des techniques biochimiques ou moléculaires).

Les caractéristiques phénotypiques ont été et continuent d'être utilisées comme étant des éléments indispensables dans la classification définitive des espèces cultivées (Smith et Smith, 1989). Jusqu'à nos jours, elles ont constitué le principal outil descriptif utilisé pour caractériser une collection ou germoplasme donné et pour identifier et différencier les différents types de cultivars.

Une caractérisation préliminaire des premières accessions collectées a montré une certaine variabilité des caractères qualitatifs (couleur, texture et forme de la graine, couleur de la fleur...) et des caractères quantitatifs (taille des graines, poids de cent graines, longueur de la gousse, date de floraison, date de maturité des gousses,...) (Ghalmi *et al.*, 2005).

Une évaluation agro-morphologique d'une plus large collection représentant les écotypes collectés dans les différentes régions de culture traditionnelle de niébé nous a semblé nécessaire, pour pouvoir séparer et identifier les vingt-huit morphotypes collectés dans différentes régions de l'Algérie. Un morphotype représente un ensemble d'accessions, pouvant provenir de différentes régions géographiques où elles portent

des noms vernaculaires différents, qui présentent des caractéristiques morphologiques semblables mais qui ne sont pas nécessairement identiques au niveau génétique (Arbizu *et al.*, 1997).

Les principaux objectifs de la présente étude étaient donc d'évaluer la diversité génétique des écotypes locaux en se basant sur leurs caractères agronomiques et morphologiques et d'analyser le degré de similitude ou de différences entre les accessions collectées à travers le pays par rapport à leur répartition géographique. Ce travail fournit des informations pouvant être utilisées pour élaborer des stratégies de conservation efficaces et une meilleure utilisation de ces ressources dans des programmes de sélection végétale.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal est constitué de 28 écotypes de niébé collectés dans différentes régions de l'Algérie durant les années 2003, 2004, 2005 et 2006 (Tableau 4). Les écotypes étudiés se différencient par les traits morphologiques de la graine.

Tableau 4 : Lieu et date de collecte des 28 écotypes locaux étudiés

CHAPITRE 3: CARACTÉRISATION AGRO-MORPHOLOGIQUE DE 28 ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ CULTIVÉS EN ALGÉRIE

Écotypes	Lieu de collecte	Date de collecte
NE5	Tonga Ouest, El Kala	Octobre 2003
NE8	Oubaira nord-est, El- Kala	Octobre 2003
NE10	Macheteb, Oum El Taboul, El Kala	Octobre 2003
NE11	Macheteb, Oum El Taboul, El Kala	Octobre 2003
NE4	Mellah, ouest, El Kala	Août 2003
NKT3	Boghni, Tizi-Ouzou	Septembre 2004
NKT4	Boghni, Tizi-Ouzou	Septembre 2004
NKT5	Boghni, Tizi-Ouzou	Septembre 2004
NKT7	Si Khoumadour, Tizi-Ouzou	Septembre 2004
NKB7	Aït Smail, Bejaia	Juin 2004
NAG11	Oujelaine, Tsabit, Adrar	Octobre 2003
NAG4	Oujelaine, Tsabit, Adrar	Octobre 2003
NAT4	Bouda, Adrar	Octobre 2003
NAG5	Tsabit, Adrar	Octobre 2003
NAT9	Adgha, Adrar	Octobre 2003
NAT5	Bouda, Adrar	Octobre 2003
NAT2	Bouda, Adrar	Octobre 2003
NAG6	Oujelaine, Tsabit, Adrar	Octobre 2003
NG7	Hassi-Gara, El Goléa	Avril 2004
NAG3	Ouled Said, Timimoun	Avril 2004
NAG2	Ouled Said, Timimoun	Avril 2004
NB16	El Zaoueya, El Tahetaniya, Taghit, Bechar	Février 2005
NB12	El Ouata, Bechar	Février 2005
NB18	Timoudi, Bechar	Février 2005
ND3	Azzelouaz, Djanet	Juin 2006
ND7	Azzelouaz, Djanet	Juin 2006
ND4	Azzelouaz, Djanet	Juin 2006
ND6	El Mihan, Djanet	Juin 2006

2.2. PRÉSENTATION DE LA ZONE D'ÉTUDE

L'essai a été mis en place le 3 mai 2005 sur une parcelle en plein champ de la station expérimentale de l'ITCMI (Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles) à Staouéli (latitude : 36°54N, longitude : 2°53E; altitude : 30 m) à 22 km à l'ouest d'Alger. Cette station est située dans l'étage bioclimatique, sub-humide caractérisée par un hiver doux, pluvieux et par un été chaud et sec. Les précipitations annuelles varient de 600 à 700 mm.

Durant la période humide, les vents dominants sont ceux du nord-ouest, alors que la période sèche est dominée par les vents d'est et parfois les vents du sud.

La période de culture du niébé (entre mai et septembre 2005) a coïncidé avec la saison estivale caractérisée par un climat assez chaud (avec un maximum de 33,3 °C en août) et sec avec uniquement quelques précipitations en mai (3,2 mm) et septembre (7 mm) (Tableau 5).

Tableau 5 : Données climatiques de la station expérimentale de l'ITCMI en 2005

Paramètres	Précipitations totales mensuelles (mm)	Nombre de jours de pluie	Température de l'air (°C)		Température du sol (°C) (15 cm)	Humidité relative en %	
			Min	Max		Min	Max
Mois	/	/	Min	Max	/	Min	Max
Mai	3,2	03	16,1	24,2	27,6	41,7	69,4
Juin	00	00	19,5	28,2	33,0	34,9	68,2
Juillet	00	00	22,2	31,3	35,8	30,8	72,3
Août	00	00	21,7	33,3	34,1	39,5	71,1
Septembre	7	04	21,3	30,7	28,4	35,0	63,8

Source: Station météorologique de l'ITCMI Staoueli, 2005

Le sol du site d'étude est de type sablo-limoneux, pauvre en matière organique, non salin avec un pH légèrement alcalin.

Le dispositif utilisé pour le semis est un bloc complètement randomisé à trois blocs avec 5 répétitions (plants) par bloc. Les parcelles élémentaires mesuraient 10 m x 3 m et étaient toutes séparées par une allée de 3 m. La distance entre et dans les lignées est de 0,7 m x 0,9 m.

2.3. CARACTÈRES ÉTUDIÉS

Des caractères qualitatifs et quantitatifs couramment utilisés pour décrire les cultivars de niébé ont été retenus.

2.3.1. Caractères quantitatifs

Onze (11) paramètres quantitatifs ont été mesurés (Tableau 6). Ceux-ci ont été subdivisés à priori en trois groupes, à savoir : les caractères liés au stade végétatif, les caractères de la floraison, et les caractères liés aux gousses et aux graines.

Tableau 6 : Caractères quantitatifs mesurés sur les 28 écotypes de niébé étudiés

CHAPITRE 3: CARACTÉRISATION AGRO-MORPHOLOGIQUE DE 28 ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ CULTIVÉS EN ALGÉRIE

Caractères	Stades d'observations et méthodes de mesure	Abréviations
Stade végétatif		
Hauteur du plant	Hauteur du plant (cm) mesurée 6 semaines après le semis sur 15 plants par écotype	HP
Stade floraison		
Nombre de jours du semis à la floraison	Nombre de jours du semis au début de floraison (jours) calculé sur 15 plants par écotype.	DF
Nombre de plants fleuris par accessions	Nombre de plants fleuris par écotypes calculé sur 15 plants par écotype.	NPF
Nombre de jours du semis à la nouaison	Nombre de jours du semis au début de nouaison des fleurs (jours).	DN
Stade gousses et graines		
Nombre de jours du semis à la maturité	Nombre de jours du semis au début de maturité des gousses (jours).	DM
Nombre de graines par gousse	Ce caractère est observé sur 05 gousses mures prises au hasard sur chaque plante à raison de 15 plants par écotype.	NGG
Nombre d'ovules par gousse	Le nombre d'ovules par gousse est obtenu en tenant compte du nombre de graines formées et du nombre d'ovules non développés. Il est observé sur 05 gousses par plante à raison de 15 plants par écotype.	NOG
Poids de cent graines	Poids de 100 graines (g) observé sur des graines contenant 12 % d'humidité à raison de 15 plants par écotype.	PCG
Longueur de la gousse	Longueur de la gousse (cm), observée sur 05 gousses mures prises au hasard sur chaque plante. à raison de 15 plants par écotype.	LG
Longueur des graines	Longueur de la graine (cm), est observée sur 05 graines prises au hasard sur chaque plante. à raison de 15 plants par écotype.	LGr
Nombre de gousses par plant	Nombre de gousses récoltées par pied étudié mesuré sur 15 plants par écotype.	NGP
Poids de gousses par plant	Poids des gousses récoltées par plant (g), calculé sur 15 plants par écotype.	PGP

2.3.2. Caractères qualitatifs

Les 13 caractères qualitatifs retenus sont reportés dans le tableau 7. Certains sont illustrés dans la figure 31. Les caractères qualitatifs ont concerné la description détaillée des folioles, des différentes parties de la fleur, ainsi que de la morphologie de la graine et de la gousse.

Les observations foliaires sont réalisées sur des folioles terminales de feuilles adultes, au début de la période de floraison. La couleur de la fleur est celle de l'intérieur de l'étendard

et de l'extérieur de l'aile. Les caractères sont observés sur cinq organes (feuilles, fleurs et gousses) différents par plant, à raison de 15 plants par écotype.

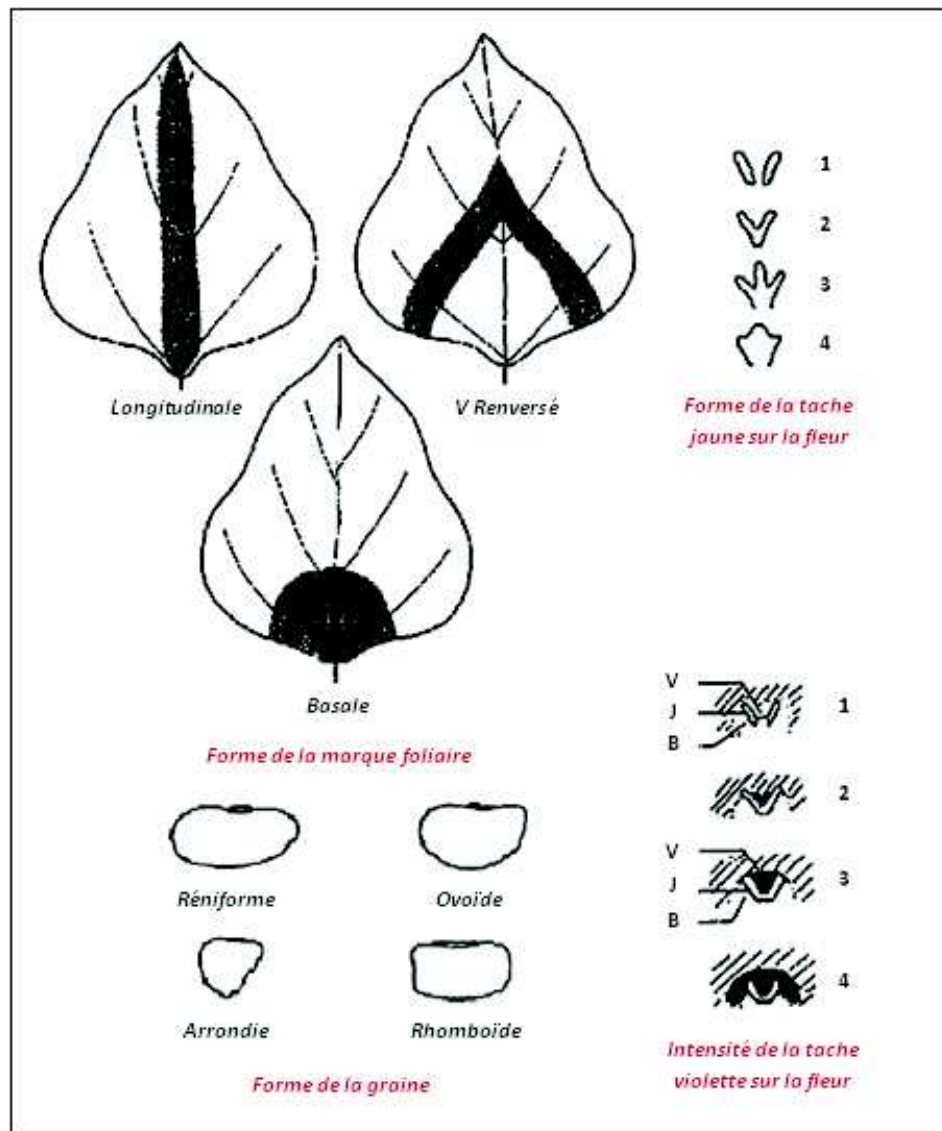


Figure 31 : Illustration de quelques caractères morphologiques discriminants chez *Vigna unguiculata*

(Pasquet, 1993a ; Padulosi, 1993 ; IPBGRI, 1983).

Tableau 7 : Caractères qualitatifs observés chez les écotypes de niébé

CHAPITRE 3: CARACTÉRISATION AGRO-MORPHOLOGIQUE DE 28 ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ CULTIVÉS EN ALGÉRIE

Caractères morphologiques	États	Abréviations
Abondance de la végétation	Notée à la 6 ^{ème} semaine après le semis. feuillage très peu abondant (1), feuillage peu abondant (intermédiaire) (2), feuillage abondant (3).	AVG
Forme de la foliole terminale	Notée sur la foliole terminale d'une jeune feuille mature à la 6 ^{ème} semaine après le semis. ovale (1), lancéolé (2).	FT
Marque foliaire	V renversé (1), marque foliaire basale (2), marque longitudinale (3).	MFO
Habitus de croissance	- Port érigé (ou dressé) : la tige est orthotrope courte ; les rameaux sont courts; et la plante, dressée (1) ; - Port semi-érigé : il est intermédiaire entre le port érigé et le port rampant (2) ; - port rampant : toute la plante, y compris le bourgeon terminal de la tige et des rameaux, s'étend et rampe sur le sol (3) ; - port semi rampant (4) ; - port grimpant (ou volubile) : la plante entière, tige et rameaux, s'enroule autour du même tuteur (5) ; - port intermédiaire érigé grimpant (6) ; - port intermédiaire rampant-grimpant (7).	HCR
Couleur de la fleur	Blanche (1), mauve-rose (2), foncée violette (3)	CF
Forme de la tache jaune	Deux lobes latéraux séparés (1), deux lobes latéraux confluent à la base (2), deux lobes latéraux confluent à la base avec un lobe médian (3)	FTJ
Étendue de la tache blanche	Moyenne, en-dessous de la tache jaune (1) forte, au-delà de la tache jaune (2)	TTB
Intensité de la tache violette	Mulle, très faible (0), moyenne (1), forte, large (2)	ITV
Texture de la graine	Lisse (1), lisse à rugueuse (2), rugueuse à ridée (3), ridée (4).	TG
Forme de la graine	Réniforme (1), ovoïde (2), arrondie (3), Rhomboïde (5).	FG
Couleur de l'œil de la graine	Œil absent (0), brun (1), brun large (2), noir (3).	COG
Couleur de la graine	Blanche (1), crème (2), beige- brune (3), brune (4), brune ocre (5), brune olive (6), holstein noire et blanche (7), 8 noire (8), rouge (9)	CG
Pigmentation des gousses immatures PGIM	Absence (0), présence (1).	PGIM

2.4. ANALYSE DES DONNÉES

2.4.1. Caractères quantitatifs

Dans une première phase le calcul des moyennes, des écarts type et des coefficients de variation ont permis l'étude de la distribution des différentes variables quantitatives à

l'intérieur et entre les écotypes étudiés. L'analyse a été réalisée par le logiciel XL-STAT-PRO version 7.5.

Pour une meilleure visualisation de la distribution des valeurs des individus au sein des écotypes, des graphiques Box plots ou boîtes à moustache ont été réalisés à l'aide du logiciel statistica version 7.0. Ces graphiques donnent une illustration très parlante en comparant la médiane, les quartiles, et les valeurs extrêmes à l'intérieur d'une catégorie de la variable étudiée. La boîte à moustache est une des techniques les plus utilisées pour visualiser l'écart attendu des observations et les statistiques extrêmes.

Une analyse de la variance multivariée (MANOVA) a été appliquée sur les variables quantitatives. Plusieurs variables à expliquer ont été prises en considération pour mieux observer un éventuel effet global de la variable explicative ; une analyse de la variance (ANOVA) a été ensuite réalisée sur chaque variable séparément. Le test de l'effet principal de chaque facteur et des interactions sur les variables repose sur les statistiques Λ de Wilks formées du rapport des variances généralisées entre les matrices de dispersion intergroupes et la matrice de dispersion intra-groupes (Palm, 1999).

Lorsqu'une différence significative est révélée entre écotypes pour un caractère donné, l'ANOVA est complétée par le test de Fisher LSD au seuil de 5% qui permet d'identifier les écotypes qui diffèrent significativement des autres.

2.4.2. Caractères qualitatifs

L'ensemble des 11 caractères qualitatifs a servi à réaliser une Analyse en Composantes Principales (ACP) et une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). Les composantes principales sont construites de manière à rendre compte de la plus grande fraction de la variance totale. On retient pour l'analyse les premières composantes principales qui prennent en compte la majeure partie de la variance observée. La détermination, pour chaque composante principale, des variables qui y sont fortement corrélées permet de ressortir les variables originelles qui contribuent le plus à la valeur de chaque composante principale. La projection de l'ensemble des individus sur les plans des principaux axes des principales composantes permet ensuite d'apprécier la dispersion des individus et mieux comparer par la suite la variabilité entre les champs. La classification Ascendante Hiérarchique (CAH) et l'Analyse en Composantes Principales (ACP) ont été réalisées avec le logiciel XL-STAT-PRO version 7.5. Le test de corrélation de Pearson a été utilisé pour l'estimation des degrés d'association entre les différents caractères étudiés (qualitatifs et quantitatifs).

À partir des tables de contingences, le test d'indépendance a été réalisé par le calcul du Khi carré à l'aide du logiciel InStat 3 (Graphpad software). Le test Khi2 a été utilisé pour étudier la liaison entre les variables qualitatives et les écotypes. Le seuil de signification a été fixé à 5% ($P < 0.05$). Si la probabilité « p » est inférieur ou égale à 0,05 alors il existe une liaison entre la variable et le phénomène étudié.

Une Analyse des Correspondances Multiples (ACM) suivie d'une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH), ont été réalisées avec le logiciel XL-STAT-PRO version 7.5 pour l'analyse des caractères qualitatifs. La construction du dendrogramme a été engendrée selon la de méthode UPGMA.

3. RÉSULTATS

3.1. CARACTÈRES QUANTITATIFS

L'analyse statistique des caractères quantitatifs mesurés a permis de révéler la présence d'une certaine diversité au sein des écotypes de niébé cultivés dans le Nord et dans le Sud de l'Algérie (annexe 2). L'analyse de la variance multivariée (MANOVA) a montré une différence très hautement significative entre les écotypes étudiés et l'interaction blocs X écotypes était non significative et cela pour l'ensemble des caractères étudiés ($F = 23,25$; $P < 0,001$).

Les résultats de l'analyse de la variance ont montré aussi une différence très hautement significative entre les écotypes pour l'ensemble des caractères quantitatifs étudiés lorsqu'on considère chaque variable séparément.

3.1.1. Stade végétatif

Concernant la hauteur des plants mesurée 46 jours après la date de semis, l'analyse de la variance a révélé des différences très hautement significatives entre les écotypes ($F = 13,47$, $P < 0,0001$). L'écotype NAG4 s'est distingué par la plus faible valeur avec une moyenne de 30,93 cm alors que l'écotype NAG6 a présenté la hauteur la plus importante avec une moyenne de 64,60 cm.

La hauteur de la plante a montré des variations importantes avec des valeurs atypiques pour les écotypes NKT3, NKT7, NKT4, NKB7 et NAT2 et des écarts importants entre les minima et les maxima (figure 32). En effet, des coefficients de variation intra-écotypes généralement assez élevés dépassant 30% pour l'écotype NKB7 et un coefficient de variation inter écotypes de 26 % ont été enregistrés (tableau 8).

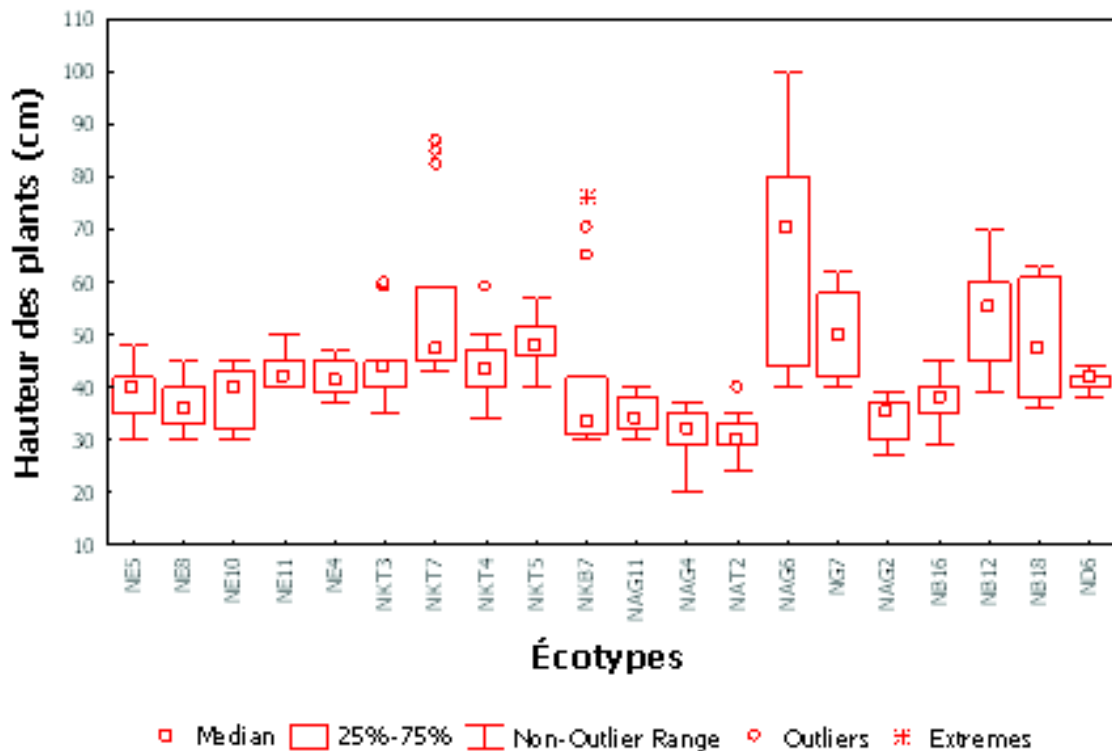


Figure 32. Box plots de la hauteur des plants par écotype

Tableau 8 : Statistiques descriptives pour la hauteur du plant

Écotypes	Hauteur du plant (cm)		
	MOY±ET	CV	GH
NE5	39,53±5,03	12,71	CDEFG
NE8	36,67±4,88	13,31	ABCDE
NE10	37,38±5,14	13,59	BCDEF
NE11	42,97±3,31	7,70	EFGHI
NE4	41,40±3,20	7,74	EFGH
NKT3	45,13±7,95	17,60	GHIJ
NKT7	55,93±15,65	27,97	L
NKT4	44,00±5,89	13,39	FGHIJ
NKT5	47,94±5,06	10,55	HIJK
NKB7	41,27±15,69	38,01	DEFG
NAG11	34,80±3,53	10,14	ABCD
NAG4	30,93±4,46	14,43	A
NAT2	31,33±4,51	14,41	AB
NAG6	64,60±20,03	31,01	M
NG7	50,40±7,62	15,13	JKL
NAG2	34,07±3,51	10,32	ABC
NB16	36,57±4,86	13,30	ABCDE
NB12	53,27±10,39	19,50	KL
NB18	48,87±11,00	22,51	IJK
ND6	41,10±2,07	5,04	DEFG
Total	42,95±11,88	27,66	

Moy : Moyenne, **GH** : Groupes Homogènes, **CV** : Coefficient de Variation, **ET** : Écart Type

3.1.2. Stade floraison

La totalité des accessions en provenance du nord du pays ont fleuri dans les conditions climatiques de la station expérimentale de l'ITCMI (figure 33). Par contre les accessions en provenance des oasis du Sahara ont présenté une certaine variabilité vis-à-vis de la floraison. Les accessions NAT9 en provenance du Touat, NAG3 du Gourara et ND3 de Djanet n'ont présenté aucune floraison dans les conditions pédoclimatiques de notre essai. Certaines accessions ont fleuri tardivement avec l'apparition de fleurs uniquement sur quelques plants. L'accession NAT4 a présenté 20 % de plants fleuris 108 jours après le semis, NAG5 a montré 33,33 % de plants fleuris à 64 jours après la date de semis, NAT5 a présenté 13,33 % de plants fleuris à 110 jours après le semis, ND7 a été caractérisée par 13,33 % de plants en floraison à 102 jours après le semis et ND4 a présenté 66,66 % de plants fleuris 92 jours après le semis (figure 34). Les écotypes n'ayant pas fleuri ou présentant uniquement quelques plants fleuris n'ont pas été prises en considération dans les analyses statistiques des données quantitatives à cause des données manquantes engendrées.

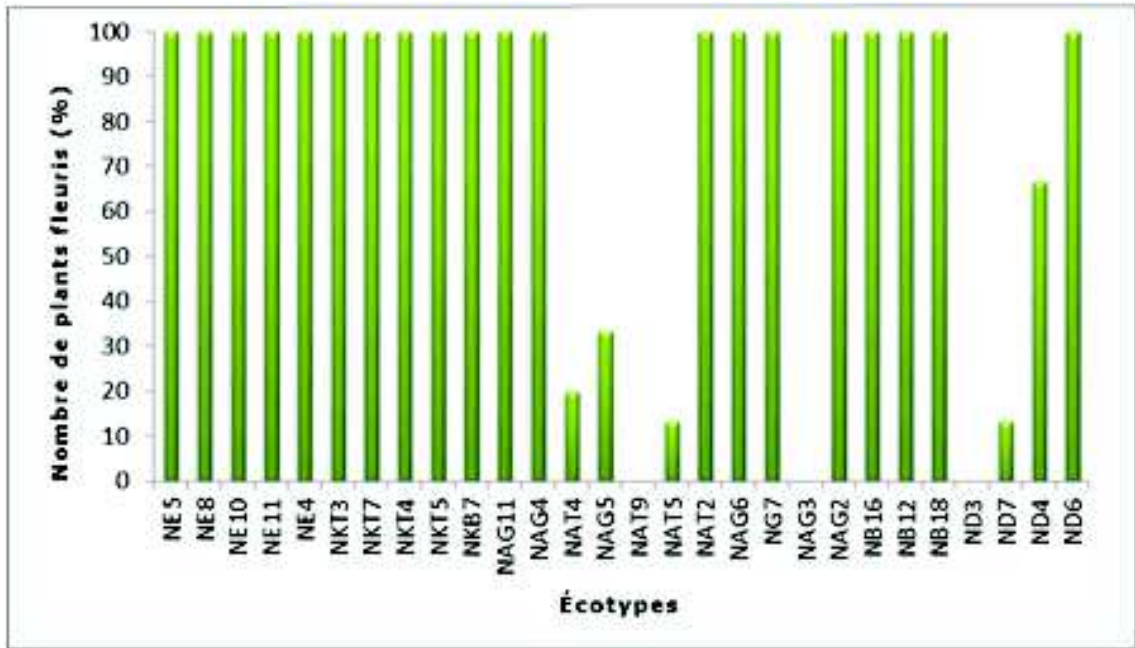


Figure 33 : Fréquence des plants fleuris par écotype

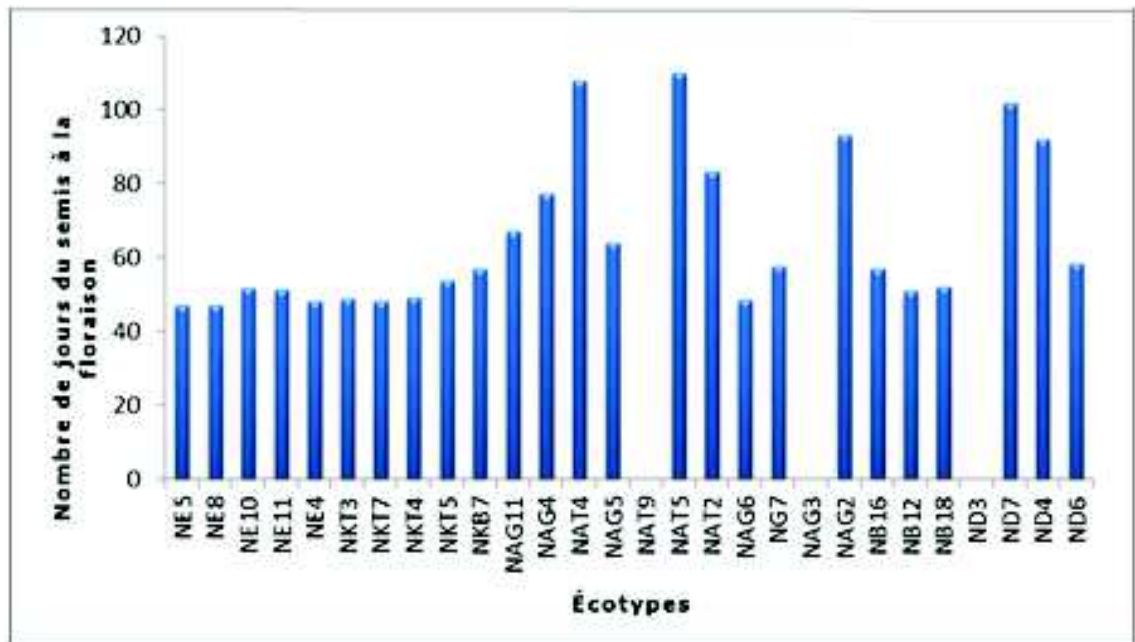


Figure 34 : Nombre de jours du semis à la floraison des 28 écotypes de niébé étudiés

L'ANOVA a révélé une différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les écotypes étudiés pour les caractères floraison ($F=827,3$), nouaison ($F= 806,2$) et maturité ($F= 171,4$). L'écotype NE8 a été le plus précoce avec une floraison à environ 46 jours après le semis et l'écotype NAG2 a été le plus tardif avec une floraison à environ 93 jours après le semis.

Généralement, les écotypes du nord de l'Algérie ont présenté une plus grande précocité par rapport à ceux du sud, sauf pour les écotypes NAG6, NB12 et NB18 du sud qui ont été classés par le test LSD de Fischer avec les écotypes précoces du nord du pays (tableau 9).

Ecotypes	DF			DN			DM		
	MOY±ET	CV	GH	MOY±ET	CV	GH	MOY±ET	CV	GH
NE5	47,07±0,88	1,88	AB	50,07±0,59	1,19	A	76,40±0,83	1,08	A
NE8	47,93±0,88	1,88	A	50,33±1,05	2,08	A	76,20±0,41	0,54	A
NE10	51,60±1,50	2,91	DE	56,67±0,82	1,44	E	76,40±0,83	1,08	A
NE11	51,40±0,83	1,61	DE	55,27±0,88	1,60	D	76,20±0,41	0,54	A
NE4	48,07±0,80	1,66	ABC	52,80±0,77	1,47	C	76,33±0,49	0,64	A
NKT3	48,80±0,86	1,77	C	52,60±1,06	2,01	C	76,20±0,41	0,54	A
NKT7	48,20±1,15	2,38	BC	51,27±1,71	3,34	AB	76,20±0,41	0,54	A
NKT4	49,13±0,83	1,70	C	51,67±1,23	2,39	BC	77,07±1,28	1,66	A
NKT5	53,67±1,45	2,70	F	57,27±1,58	2,76	E	76,73±1,22	1,59	A
NKB7	56,80±0,86	1,52	G	63,73±0,80	1,25	FG	84,73±0,80	0,94	C
NAG11	67,27±3,24	4,82	I	72,93±3,77	5,17	H	87,73±4,13	4,71	D
NAG4	77,33±1,05	1,35	J	86,80±1,21	1,39	I	93,00±5,72	6,15	E
NAT2	83,33±3,52	4,22	K	87,07±3,69	4,24	I	100,73±4,57	4,54	F
NAG6	48,47±0,52	1,07	C	52,33±0,49	0,93	BC	75,93±0,80	1,05	A
NG7	57,80±0,41	0,72	GH	62,53±0,52	0,83	F	76,60±0,51	0,66	A
NAG2	93,20±2,48	2,67	L	96,40±2,50	2,59	J	101,47±1,77	1,74	F
NB16	56,93±4,48	7,87	G	64,79±4,56	7,04	G	81,43±5,46	6,70	B
NB12	50,87±0,99	1,95	D	54,93±1,03	1,88	D	77,47±0,64	0,83	A
NB18	52,20±1,08	2,07	E	57,0±1,46	2,57	E	77,33±1,23	1,60	A
ND6	58,47±1,19	2,03	H	63,27±0,88	1,40	F	83,73±1,03	1,23	C
Total	57,38±12,84	22,37		61,98±13,39	21,61		81,39±8,34	10,24	

Tableau 9 : Statistiques descriptives des variables floraison, nouaison et maturité

Moy : Moyenne, **GH** : Groupes Homogènes, **CV** : Coefficient de Variation, **ET** : Écart Type

Les individus ont été homogènes à l'intérieur d'un même écotype pour le caractère nombre de jours du semis à la floraison (figure 35) avec de faibles coefficients de variation intra-écotypes (tableau9)

Les écotypes étudiés ont présenté également une différence très hautement significative pour le caractère nouaison. Les écotypes NE5 et NE8 ont présenté la nouaison la plus précoce avec une moyenne de 50 jours à partir de la date de semis. L'écotype NAG2 le plus tardif pour la floraison, a été aussi le plus tardif à nouer avec une nouaison à environ 96 jours après le semis (figure 36, tableau 9).

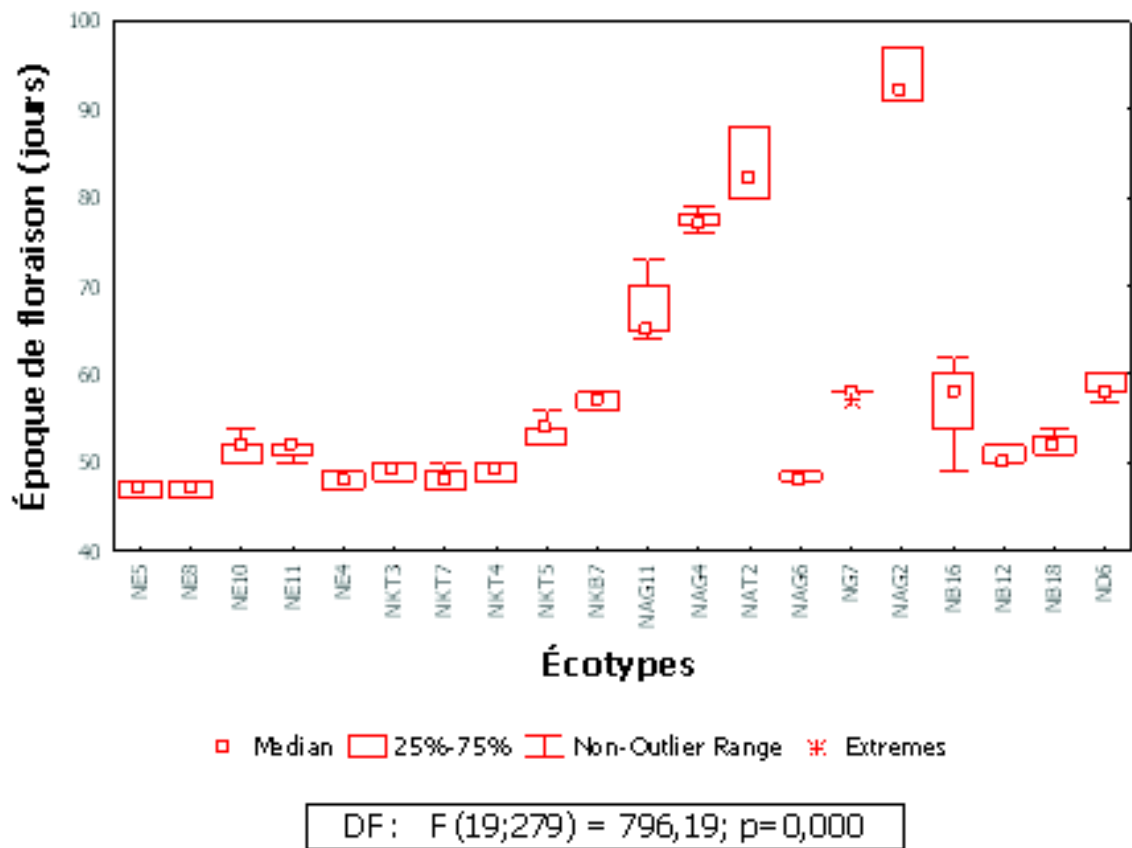


Figure 35 : Box plots du nombre de jours du semis à la floraison par écotyle

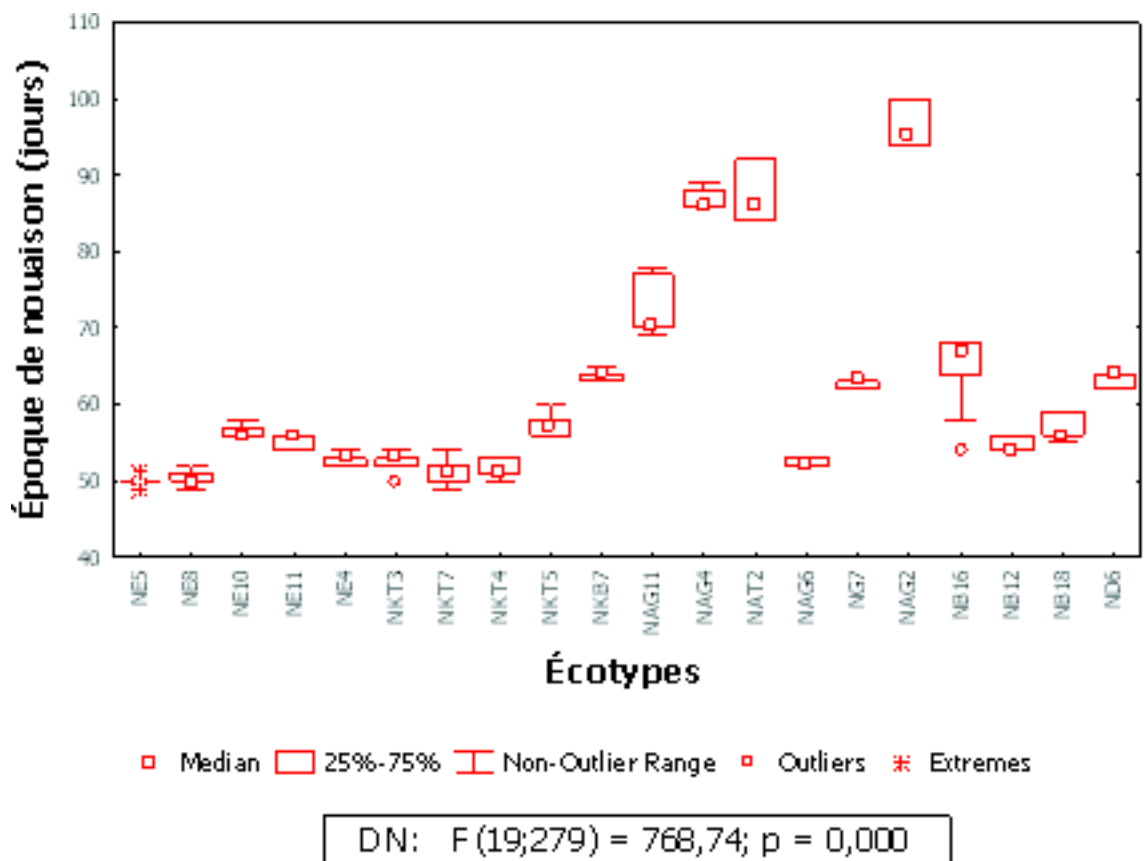


Figure 36 : Box plots du nombre de jours du semis à la nouaison par écotype

Le caractère période de nouaison a été assez stable à l'intérieur des écotypes avec des coefficients de variation situés entre 0,83 et 7,04 % (figure 36, tableau 9). Concernant la maturité, les écotypes du nord du pays (NE5, NE8, NE10, NE11, NE4, NKT3, NKT7, NKT4, NKT5) et les écotypes du sud du pays (NAG6, NG7, NB12 et NB18) font partie du même groupe homogène et ont une précocité similaire à environ 75 à 77 jours après le semis, alors que les écotypes NAT2 et NAG2 ont présenté la maturité la plus tardive avec environ 100 jours entre le semis et la maturité des premières gousses (figure 37, tableau 9).

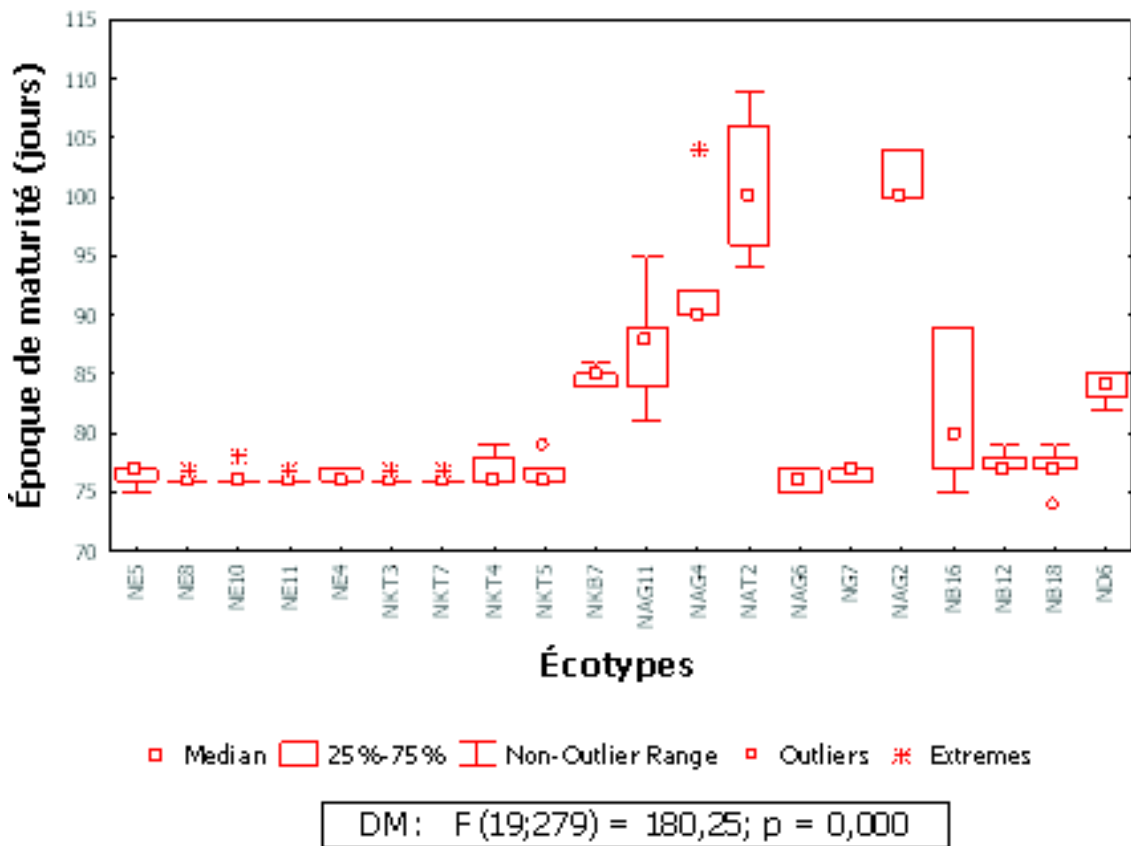


Figure 37 : Box plots du nombre de jours du semis à la maturité par écotype

3.1.3. Stades graines et gousses

Les caractères poids de gousses et nombre de gousses par plant sont liés au rendement. Une grande variabilité intra et inter-écotypes a été observée pour ces caractères avec des coefficients de variation intra-écotype dépassant 60 % (tableau 10).

Des fluctuations importantes entre les minimas et les maximas ont été aussi notées avec plusieurs valeurs atypiques observées montrant l'hétérogénéité des accessions vis-à-vis de ces caractères (figures 38 et 39). L'ANOVA a mis en évidence une différence très hautement significative entre les écotypes étudiés pour le caractère poids de gousses par plant ($F=20.91$, $p<0.001$) et le caractère nombre de gousses par plant ($F=10.14$, $p<0.001$).

La comparaison des moyennes par le test LSD Fisher a montré d'une manière générale la faible production de gousses des écotypes en provenance du sud par rapport à celles du nord. Les écotypes NAT2 (7,13 g) et NAG11 (11,46) originaires du Touat et du Gourara ont été caractérisés par le plus faible poids de gousses.

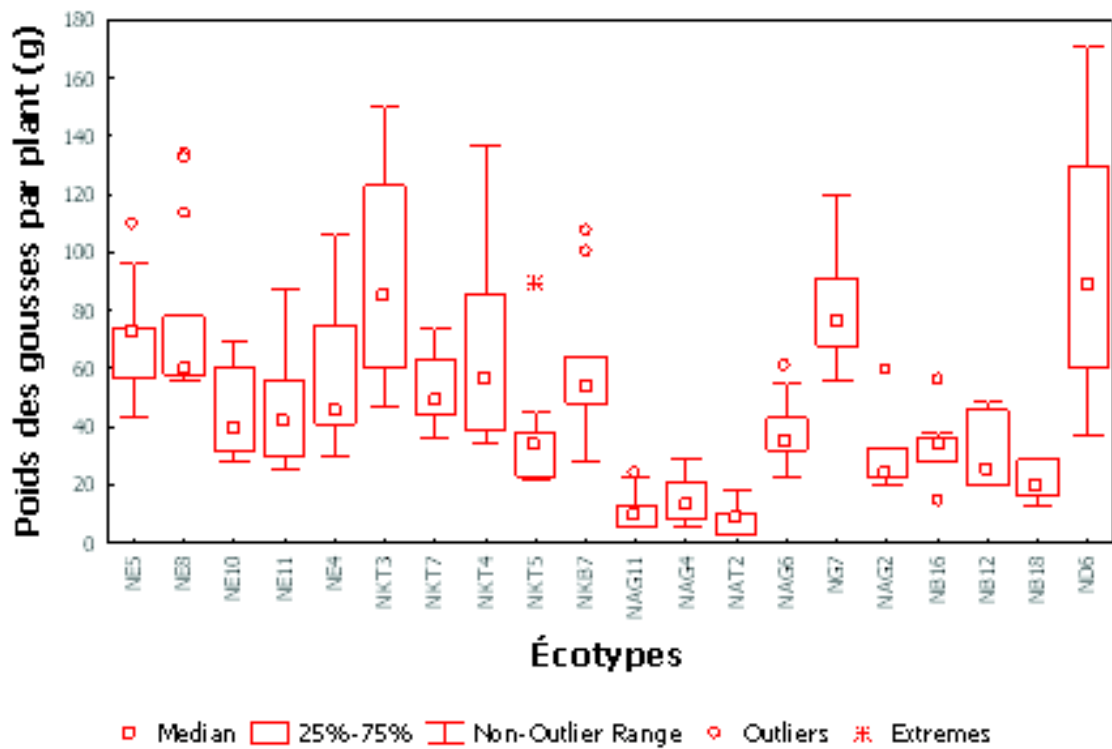
Deux écotypes en provenance du Sud NG7 (79,66 g) et ND6 (95,20 g) ont présenté une exception ;en produisant un poids de gousses élevé. En effet, les écotypes NG7, ND6 avec l'écotype NKT3 (90,40 g) originaire de Tizi-Ouzou ont présenté le poids de gousse par plant le plus élevé et sont classés dans le même groupe homogène (tableau 10).

L'écotype NG7 (55,66 gousses/plant) a donné également le nombre le plus important de gousses par plant, alors que les écotypes NAT2 (10,26 gousses/plant) et NAG11 (11,26 gousses/plant) ont présenté les valeurs les plus faibles (tableau 10, figure 39).

Écotypes	PGP			NGP			PCG		
	MOY±ET	CV	GH	MOY±ET	CV	GH	MOY±ET	CV	GH
NE5	69,73±17,99	25,80	HIJ	33,13±11,78	35,56	CDE	19,48±0,95	4,88	I
NE8	74,27±27,84	37,49	IJ	45,67±20,55	45,00	GHI	15,28±1,44	9,51	G
NE10	46,07±14,91	32,37	EF	37,80±16,33	43,21	DEFG	11,57±0,67	6,53	E
NE11	47,40±21,53	45,43	EF	34,67±13,09	37,75	CDEF	12,12±0,72	5,95	E
NE4	56,13±23,19	41,31	FGH	39,33±18,85	47,92	EFG	11,74±0,57	4,89	E
NKT3	90,40±31,72	35,09	K	53,07±18,48	34,83	HI	19,51±1,61	8,27	I
NKT7	53,25±11,90	22,35	FG	37,73±13,00	34,46	DEFG	21,85±3,23	14,79	J
NKT4	65,33±33,79	51,72	GHIJ	41,60±20,99	50,45	EFG	14,00±1,31	9,33	F
NKT5	35,27±17,00	48,20	CDE	28,27±18,06	63,90	BCD	11,34±0,82	7,23	E
NKB7	60,13±24,34	40,47	FGHI	36,67±14,01	38,21	CDEFG	10,43±0,91	8,76	D
NAG11	11,47±6,63	57,84	A	11,27±5,87	52,13	A	9,13±0,91	9,98	ABC
NAG4	15,13±7,32	48,36	AB	19,40±11,19	57,69	AB	8,79±1,15	13,05	AB
NAT2	7,31±4,42	61,99	A	10,27±6,33	61,65	A	8,23±0,96	11,72	A
NAG6	37,20±11,03	29,66	DE	31,53±5,90	18,72	CDE	8,74±0,73	8,34	AB
NG7	79,67±17,81	22,35	K	55,67±16,25	29,19	I	13,79±0,93	6,77	F
NAG2	32,20±14,82	46,04	CDE	44,07±16,20	36,77	FGH	8,65±0,84	9,76	AB
NB16	32,00±10,04	31,37	CDE	35,71±9,97	27,92	CDEFG	9,34±1,29	13,78	BC
NB12	29,80±11,90	39,93	BCD	27,00±9,40	34,80	BC	9,70±0,62	6,44	CD
NB18	20,00±6,08	30,41	ABC	19,00±3,98	20,96	AB	9,00±0,58	6,42	ABC
ND6	95,20±45,28	47,57	K	40,80±18,70	45,83	EFG	16,09±1,13	7,00	H
Total	47,94±32,30	67,37	/	34,13±18,38	53,84	/	12,44±4,17	33,52	/

Tableau 10 : Statistiques descriptives des caractères quantitatifs liés aux stades graines et gousses

Moy : Moyenne, **GH** : Groupes Homogènes, **CV** : Coefficient de Variation, **ET** : Écart Type, **PGP** : poids de gousses par plant, **NGP** : nombre de gousses par plant, **PCG** : poids de cent graines



PG/plt: $F(19;279) = 23,26; p = 0,000$

Figure 38 : Box plots du poids de gousses par plant

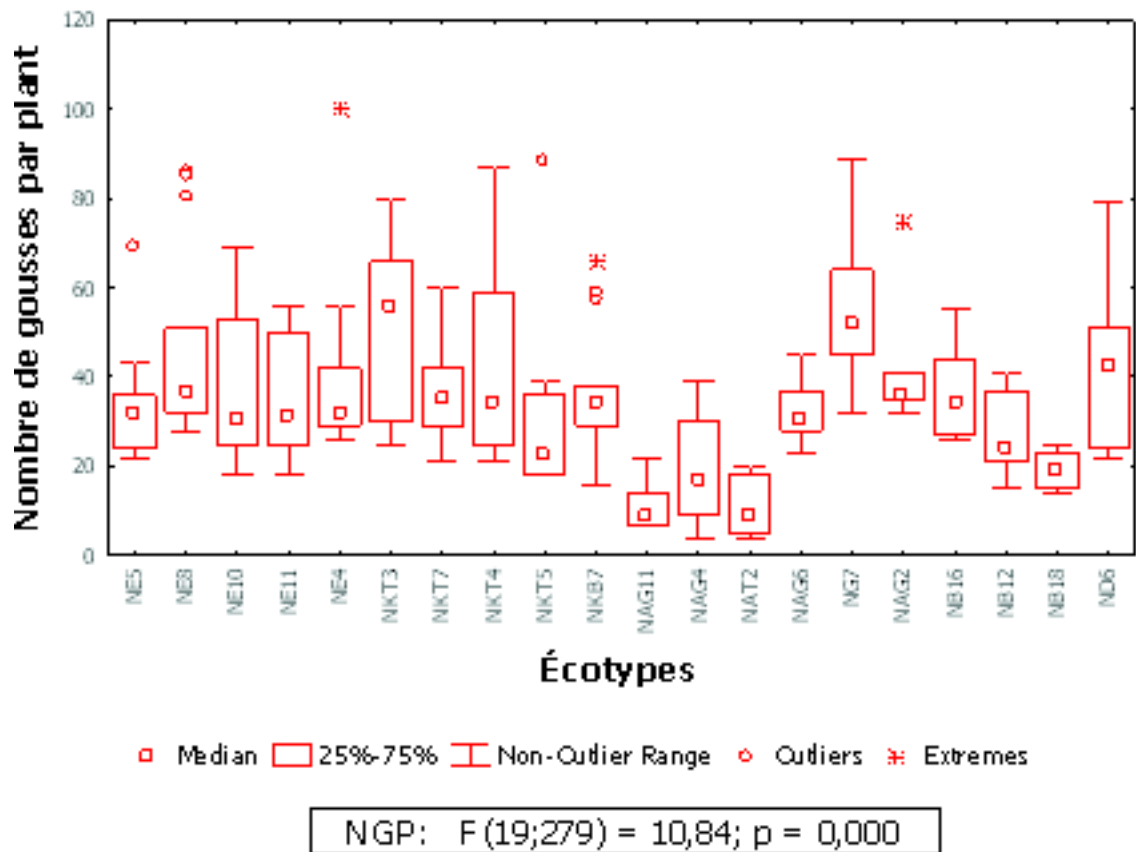


Figure 39 : Box plots du nombre de gousses par plant

L'ANOVA a révélé un effet très hautement significatif du caractère poids de cent graines sur les écotypes étudiés ($F=158,30, P<0,001$). Le test LSD de Fisher a montré la supériorité des écotypes du nord pour ce caractère. Les écotypes NKT7 et NKT3 à graines de couleur crème et œil noir en provenance de Kabylie ont été caractérisés par le poids de cent graines le plus élevé avec des poids respectifs de 21,85 g et 19,51 g. L'écotype NAT2 à graines de couleur beige-brune d'Adrar a présenté le poids de cent graines le plus faible avec un poids de 8,22 g (figure 40, tableau 10). Le poids de cent graines est moins variable au sein des écotypes par rapport aux autres composantes du rendement avec un coefficient de variabilité ne dépassant pas 15 % (tableau 10).

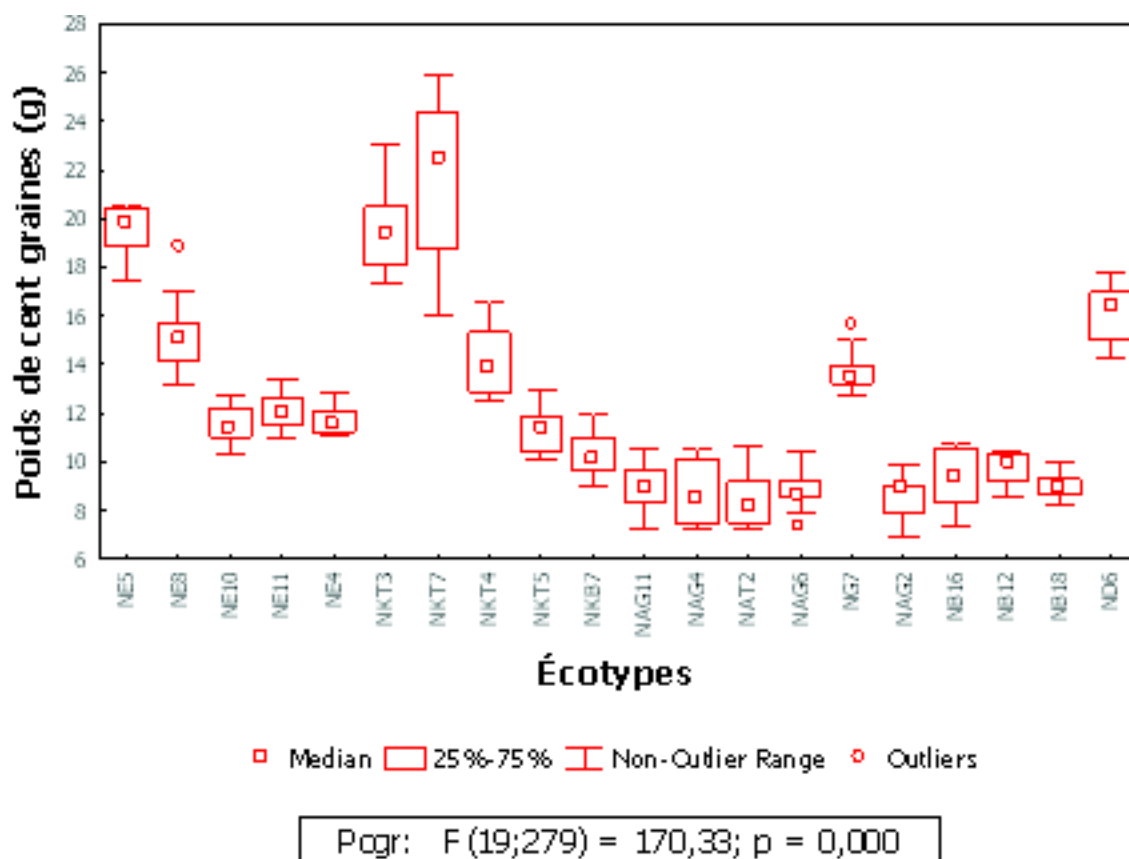


Figure 40 : Box plots du poids de cent graines

Les caractères nombre de graines et d'ovules par gousse ont montré une certaine homogénéité intra-écotypes avec un coefficient de variation ne dépassant pas 12 % et une homogénéité dans la distribution des données (figures 41 et 42).

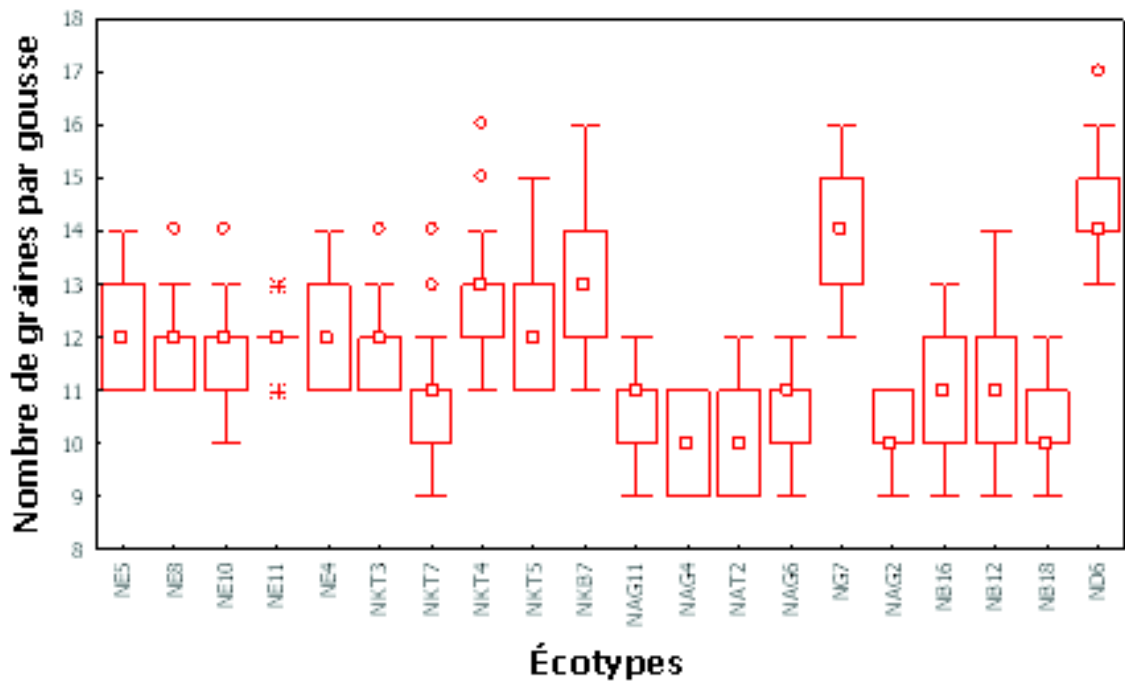


Figure 41. Box plots du nombre de graines par gousse

Le nombre de graines par gousse est un caractère morphologique discriminant chez le niébé. Il a été homogène à l'intérieur des écotypes avec de faibles coefficients de variation ne dépassant pas 12 % (tableau 11). Cependant, une grande variabilité a été enregistrée entre les écotypes avec une différence très hautement significative pour ce caractère ($F=111,8$, $p<0,001$).

Le test LSD de Fischer a montré que les écotypes ND6 (14,42 graines/gousse), NG7 (13,74 graines/gousse) et NKB7 (13,06 graines/gousse) ont été caractérisés par le nombre de graines par gousse le plus élevé.

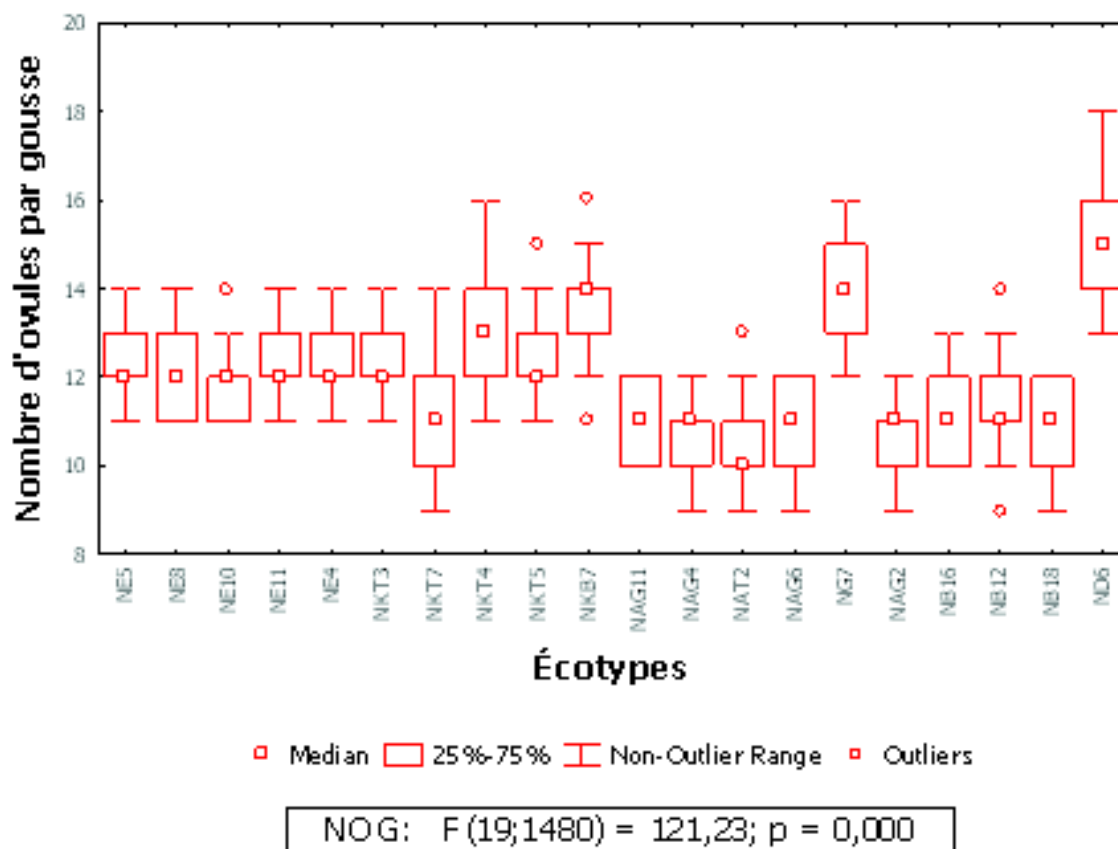


Figure 42 : Box plots du nombre d'ovules par gousse

L'écotype ND6 a été caractérisé par un nombre moyen de 14,42 graines par gousse avec un maximum de 17 et un minimum de 14 graines par gousse, alors que les valeurs ont varié de 12 à 16 graines par gousse pour l'écotype NG7 et entre 11 et 16 graines pour l'écotype NKB7.

Écotypes	NGG			NOG			LG			LGr		
	MOY±ET	CV	GH	MOY±ET	CV	GH	MOY±ET	CV	GH	MOY±ET	CV	GH
NE5	12,24±1,01	8,26	F	12,52±0,89	7,11	I	18,20±1,29	7,13	L	0,96±0,03	4,08	L
NE8	12,01±0,84	7,04	EF	12,09±0,93	7,71	FG	14,65±1,36	9,30	I	0,76±0,05	6,52	G
NE10	11,76±0,80	6,83	E	12,00±0,78	6,57	F	12,30±0,96	7,85	G	0,74±0,03	5,26	F
NE11	12,04±0,66	5,54	EF	12,30±0,61	4,99	GHI	14,36±0,92	6,41	I	0,80±0,03	4,27	I
NE4	12,30±1,04	8,45	F	12,46±0,94	7,61	HI	13,90±0,69	5,02	H	0,78±0,04	4,96	H
NKT3	11,89±0,86	7,26	E	12,17±0,86	7,07	FGH	15,84±1,28	8,10	K	0,99±0,05	5,14	M
NKT7	10,69±1,31	12,30	C	10,97±1,16	10,59	D	19,40±2,83	14,60	M	1,12±0,11	10,44	O
NKT4	12,66±1,20	9,48	G	12,92±1,07	8,32	J	15,12±1,07	7,09	J	0,83±0,05	6,54	J
NKT5	12,29±1,24	10,08	F	12,58±1,07	8,57	I	16,24±1,44	8,92	K	0,84±0,05	6,47	J
NKB7	13,06±1,30	10,01	H	13,62±1,05	7,70	K	21,78±1,58	7,29	N	0,89±0,04	4,14	K
NAG11	10,42±0,87	8,37	BC	11,02±0,75	6,83	D	11,32±0,74	6,55	DE	0,70±0,02	3,52	E
NAG4	10,12±0,83	8,28	AB	10,50±0,70	6,71	A	10,70±0,91	8,55	BC	0,69±0,02	3,91	DE
NAT2	10,06±0,93	9,29	A	10,54±0,81	7,68	AB	10,11±0,69	6,83	A	0,65±0,04	6,19	A
NAG6	10,54±0,97	9,26	C	10,84±0,93	8,58	BCD	10,98±0,88	8,04	CD	0,66±0,03	5,28	AB
NG7	13,74±1,15	8,38	I	13,85±1,12	8,11	K	16,24±1,20	7,39	K	0,81±0,05	6,18	I
NAG2	10,10±0,74	7,38	AB	10,60±0,77	7,27	ABC	10,38±0,68	6,55	AB	0,68±0,02	3,60	CD
NB16	11,09±1,21	10,91	D	11,33±1,04	9,21	E	11,57±1,01	8,78	EF	0,70±0,02	3,63	E
NB12	11,08±1,08	9,82	D	11,37±0,99	8,77	E	11,66±1,02	8,75	EF	0,67±0,03	5,75	BC
NB18	10,52±0,89	8,47	C	10,89±0,79	7,33	CD	11,91±0,76	6,45	FG	0,69±0,03	5,27	DE
ND6	14,42±1,05	7,31	J	14,80±1,27	8,60	L	25,50±2,26	8,89	O	1,03±0,04	4,64	N
Total	11,66±1,58	13,57	/	11,97±1,50	12,54	/	14,61±4,21	28,84	/	0,80±0,14	17,52	/

Tableau 11 : Statistiques descriptives pour les caractères quantitatifs liés aux stades gousses et graines

Moy : Moyenne, **GH** : Groupes Homogènes, **CV** : Coefficient de Variation, **ET** : Écart Type, **NGG** : nombre de graines par gousse, **NOG** : nombre d'ovules par gousses, **LG** : longueur de la gousse, **LGr** : longueur de la graine

L'analyse de la variance a aussi montré une différence très hautement significative entre les écotypes pour le caractère nombre d'ovules par gousse ($F=121,23$, $P<0,001$). Comme pour le nombre de graines par gousse, les écotypes ND6 (14,80 ovules/gousse), ND7 (13,85 ovules/gousse) et NKB7 (13,62 ovules/gousse) ont été caractérisés par le nombre d'ovules par gousse le plus élevé, alors que les écotypes NAG4 (10,50 ovules/gousse), NAT2 (10,54 ovules/gousse) et NAG2 (10,60 ovules/gousse) ont présenté les valeurs les plus faibles.

Concernant le caractère longueur de la gousse, la dispersion des données au sein des écotypes est assez homogène avec des coefficients de variation assez faible (tableau 11, figure 43).

L'analyse de la variance a révélé des effets très hautement significatifs entre les écotypes étudiés ($F = 755,48$, $p < 0,001$). La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré que l'écotype ND6 originaire de Djanet est caractérisé par les plus longues gousses avec une moyenne de 25,50 cm et un maximum de 30 cm, suivie des écotypes NKB7 et NKT7 qui sont caractérisés par des longueurs de gousse respectives de 21,87 cm et 19,40 cm et des maxima pouvant aller jusqu'à 26 cm. Les écotypes du sud (NB18, NB12, NB16, NAG11, NAG6, NAG4, NAG2 et NAT2) ont présenté aussi les plus petites gousses avec des longueurs moyennes inférieures à 12 cm. L'écotype NAT2 a présenté la plus faible longueur de la gousse avec une moyenne de 10,11 cm (tableau 11, figure 43).

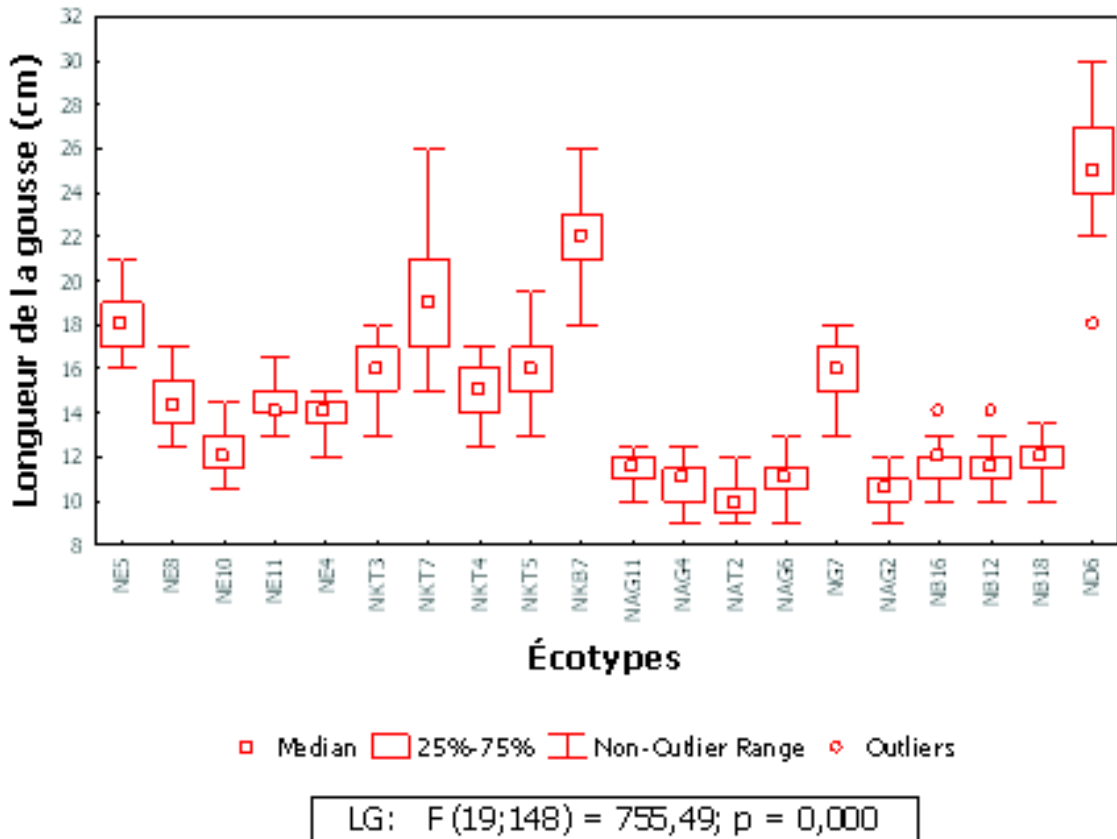


Figure 43. Box plots de la longueur de la gousse

La taille des graines des écotypes locaux de niébé étudiées est très diversifiée. L'analyse de la variance a décelé des différences très hautement significatives entre les écotypes pour cette variable ($F = 615,8$, $P < 0,001$). Selon le test de comparaison des moyennes LSD de Fisher, l'écotype NKT7 à graine de couleur crème et à œil noir a été caractérisé par les plus grandes graines avec une moyenne de 1,12 cm, un maximum de 1,45 cm et un minimum de 0,96 cm (tableau 11, figure 44).

Les écotypes en provenance du nord du pays ont généralement une longueur de la graine supérieure par rapport à ceux du sud. Exception pour les écotypes NG7 (0,80 cm) et ND6 (1,03 cm) originaires des oasis du Sahara qui ont été caractérisés par des graines de taille similaire à celle du nord. Les autres écotypes du sud ont été caractérisés par les plus petites graines avec un minimum de 0,65 cm enregistré par l'écotype NAT2 originaire d'Adrar.

Les coefficients de variation de la longueur de la graine à l'intérieur de chaque écotype sont assez faibles ne dépassant pas 10,44 % révélant l'homogénéité des données pour ce caractère (tableau 11).

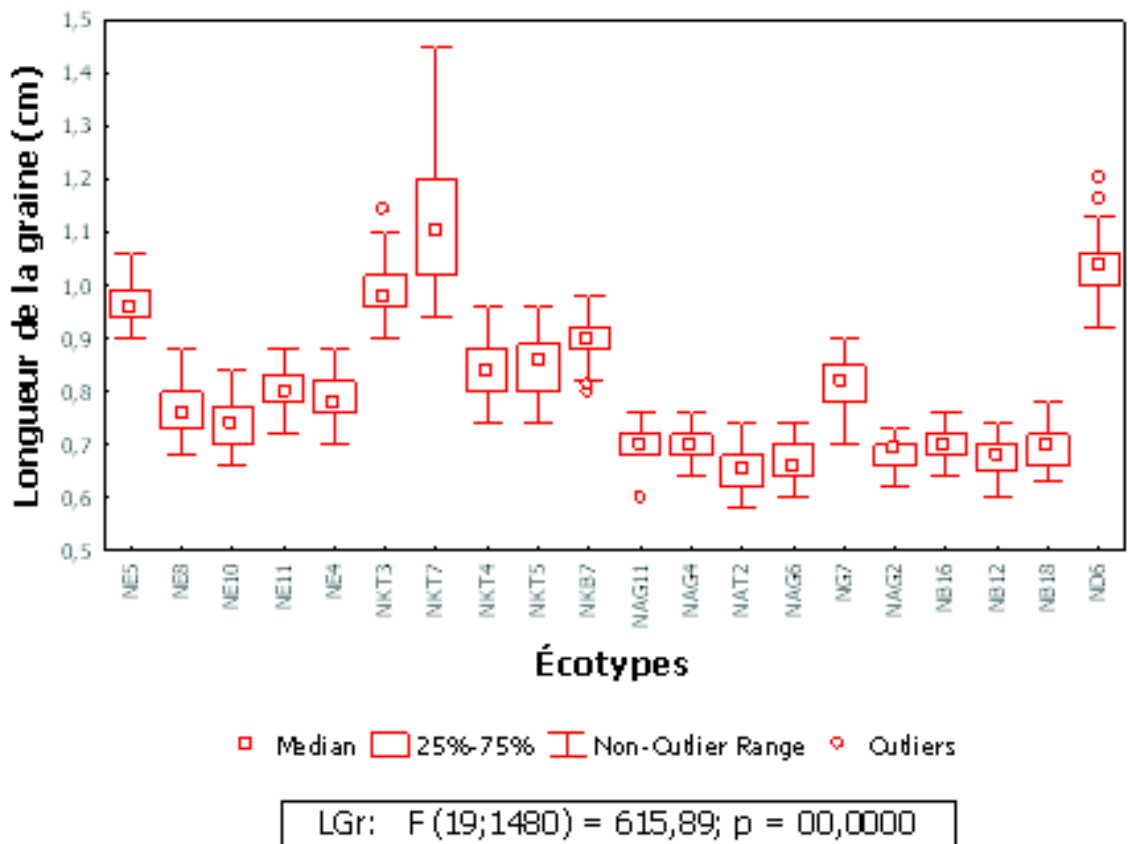


Figure 44 : Box plots de la longueur de la graine

3.1.4. Analyse en Composantes Principales et Classification Ascendante Hiérarchique

Afin de déterminer la nature et le degré de divergence entre nos accessions, une analyse en composantes principales et une classification hiérarchique ont été effectuées sur les données recueillies.

Seuls les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales (figure 45) qui ont expliqué près de 78,14 % de la variabilité exprimée, ont été pris en compte. L'axe 1 a absorbé 58,44 % de la variation. Cet axe a associé les caractères date de floraison et de nouaison, poids de gousses par plant, poids de cent graines, nombre de graines et d'ovules par gousse et longueur de la graine et de la gousse qui ont contribué à 80,61 % de la variation.

Les variables poids de cent graines, nombre et poids de gousses par plant, nombre de graines ;et d'ovules par gousse et longueur de la graine et de la gousse ont été du même côté par rapport à l'axe 1 et ont contribué toutes dans le même sens à la formation de l'axe.

L'axe 2, qui a expliqué 19,70 % de la variation, définit les variables date de floraison, de nouaison et de maturité et la hauteur des plants qui ont contribué à 68,30 % de la

variation totale. En effet, le deuxième axe a été négativement corrélé à la date de floraison, de nouaison et de maturité et positivement corrélé à la hauteur du plant.

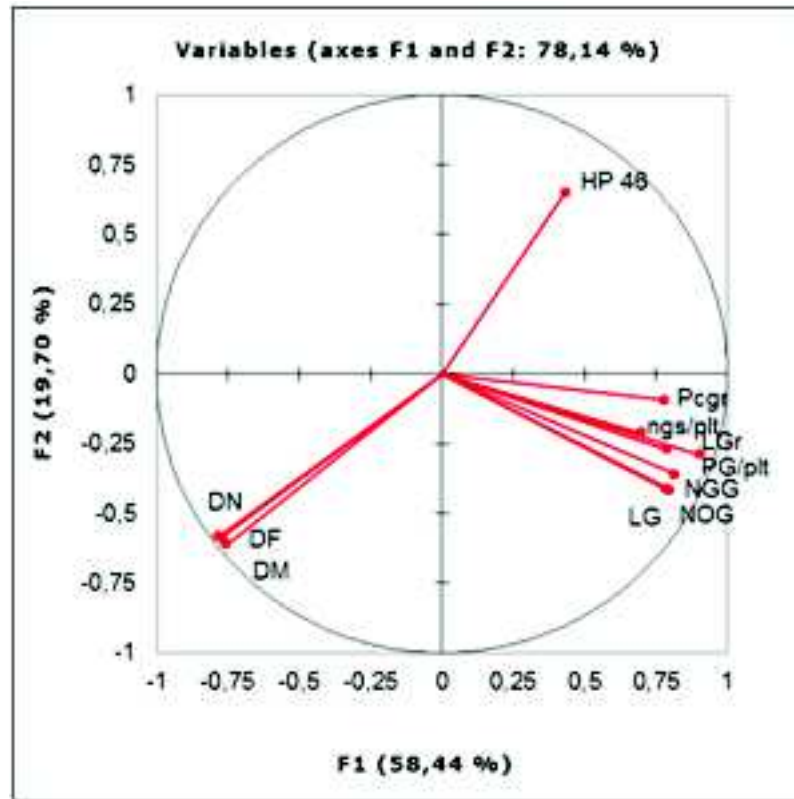


Figure 45 : Analyse des composantes principales selon les modalités des variables quantitatives

Le test de corrélation de Pearson entre les 11 caractères quantitatifs observés a montré une très forte corrélation entre les variables étudiées. La date de floraison a été corrélée positivement aux dates de nouaison ($P < 0,0001$, $r = 0,985$) de maturité des gousses ($P < 0,0001$, $r = 0,943$). Ces trois derniers caractères ont été liés entre eux et ont été corrélés négativement à la hauteur des plants, le poids de gousses par plant, le poids de cent graines et le nombre de graines par gousses. Le poids de gousses par plant a été corrélé positivement au nombre de gousses par plant ($P < 0,0001$, $r = 0,708$), au nombre d'ovules ($P < 0,0001$, $r = 0,633$), au nombre de graines par gousse ($P < 0,0001$, $r = 0,677$) au poids de cent graines ($P < 0,001$, $r = 0,563$) et à la longueur de la graine ($P < 0,001$, $r = 0,522$) et de la gousse ($P < 0,001$, $r = 0,560$). En effet, les accessions précoces ont montré une meilleure productivité par rapport aux accessions tardives. Les grandes graines ont présenté un poids élevé et un meilleur rendement. En effet, la longueur de la graine est positivement corrélée au poids de cent graines ($P < 0,05$, $r = 0,804$), au nombre de graines par gousse ($P < 0,05$, $r = 0,522$) et à la longueur de la gousse ($P < 0,0001$, $r = 0,751$).

La projection des points moyens des écotypes locaux de niébé sur le plan défini par les axes 1 et 2 (figure 46) a montré leur grande diversité pour les descripteurs étudiés. Suivant l'axe 1, un regroupement plus homogène des écotypes selon leur origine géographique a été observé. En effet, une opposition nette a été enregistrée entre les écotypes du nord et du sud du pays. Une exception concerne les écotypes ND6 et NG7 qui ont présenté une précocité et une productivité similaires à ceux du nord. Les écotypes originaires des oasis du Sahara sont plus tardifs et présentent de faibles rendements par rapport à ceux du nord

caractérisés par une plus grande productivité et une meilleure précocité. L'axe 2 a isolé les écotypes NAT2, NAG4 et NAG2 originaires d'Adrar caractérisés par la floraison la plus tardive, par le nombre de graines et d'ovules le plus faible et par les plus petites graines et gousses. L'axe 2 a isolé aussi les écotypes ND6, NKB7 et NG7 caractérisés par le nombre d'ovules et de graines par gousse le plus élevé et par les plus longues gousses (figure 46).

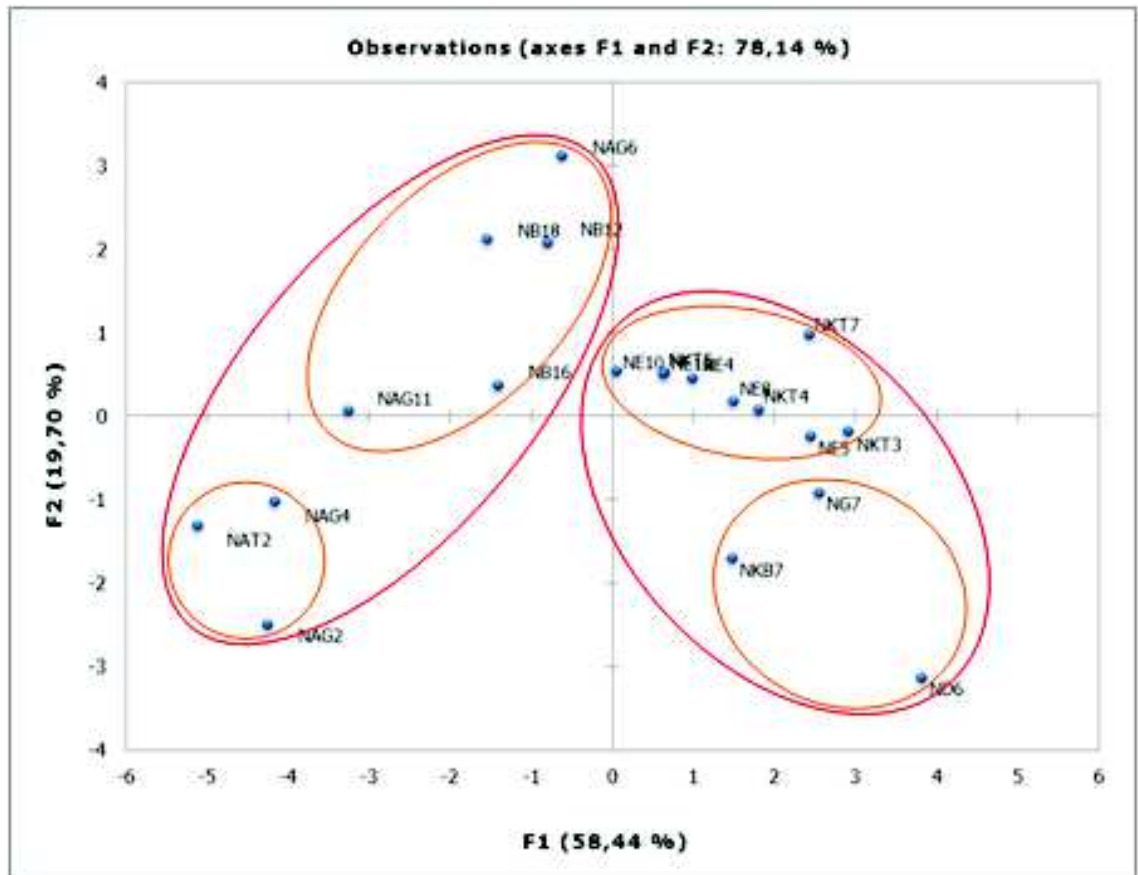


Figure 46 : Représentation graphique de la distribution spatiale des 22 écotypes de niébé dans les plans 1-2 d'une analyse en composantes principales (ACP) sur la base des caractères quantitatifs.

L'analyse du dendrogramme construit avec la méthode UPGMA (figure 47) a permis de distinguer 2 groupes de diversité selon les variables quantitatives. La séparation des groupes par ACH rejoint celle établie par l'ACP. Le premier groupe (A) comporte les écotypes originaires des oasis du Sahara caractérisés par une faible productivité et une floraison tardive. Ce groupe se subdivise en deux sous-groupes : le premier sous-groupe (I) est constitué des écotypes du sud les plus tardifs caractérisés par de faibles rendements NAG11, NAG4, NAT2, NAG2 et NB16. Le deuxième sous-groupe comprend les écotypes NAG6, NB12, NB 18 originaires du Sahara et présentant une précocité plus importante par rapport aux autres écotypes du Sahara.

Le deuxième groupe (B) est constitué des écotypes du nord (à l'exception de deux écotypes ND6 et NG7 qui sont originaires du sud et appartiennent à ce groupe). Ce groupe est subdivisé en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe (I) comprend les écotypes en provenance de la Kabylie et d'El Kala caractérisés par une floraison précoce et une meilleure productivité (poids de gousse/plant, poids de cent graines et nombre de graines par gousse). Le deuxième sous-groupe (II) a isolé les écotypes NG7 et ND6 originaires du sud et NKB7

originaire de Béjaia qui ont été caractérisés par le nombre de graines par gousse le plus élevé, par de longues gousses et une précocité similaire aux écotypes du nord.

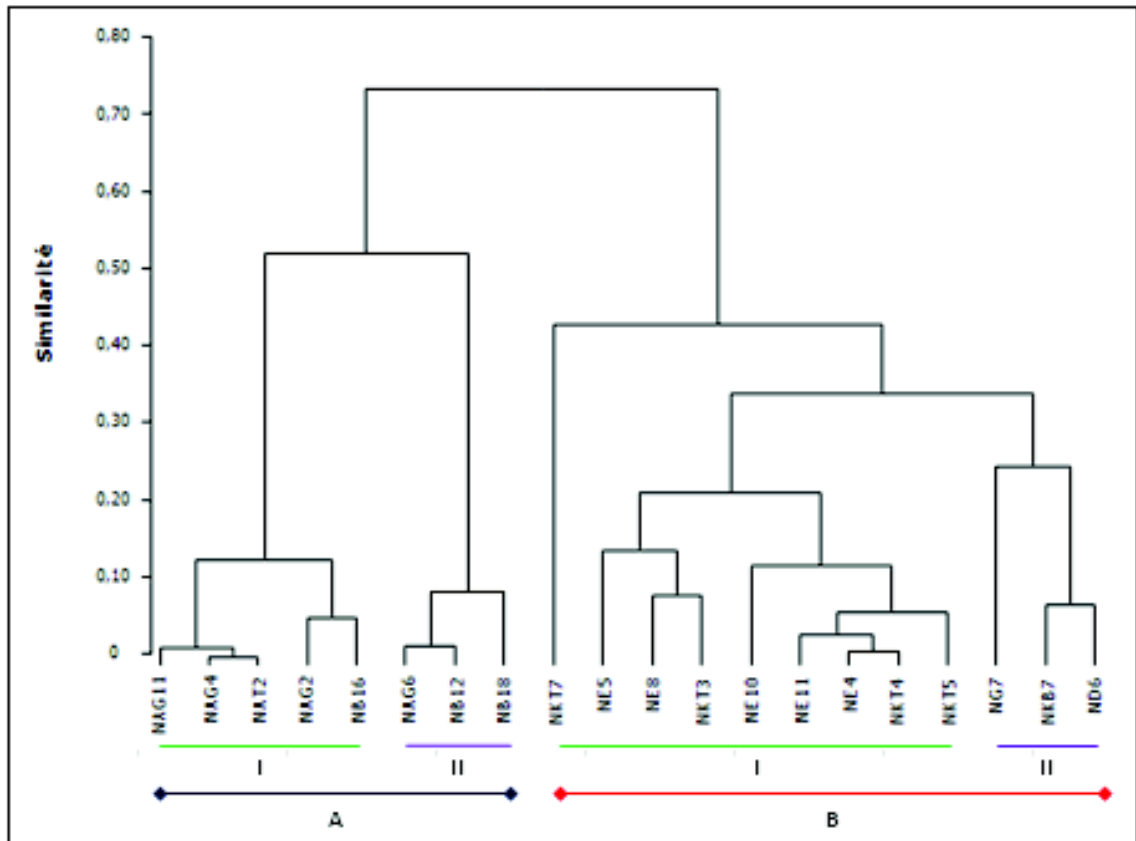


Figure 47 : Classification ascendante hiérarchique (CAH) des 20 écotypes de niébé étudiés selon les caractères quantitatifs

3.2. Caractères qualitatifs

Pour évaluer les caractères qualitatifs, un regroupement des écotypes morphologiquement identiques a été réalisé. On distingue plusieurs groupes d'écotypes morphologiquement différents (annexe 3 A-B).

Sur les 28 écotypes de niébé étudiés seulement 25 ont fleuri et ont pu être prises en considération pour l'analyse des caractères qualitatifs liés à la floraison. L'analyse globale des fréquences par le test de khi carré a montré une forte association entre les accessions et les caractères qualitatifs étudiés ($p < 0,001$). Une analyse a été réalisée par la suite pour considérer chaque caractère séparément.

3.2.1. Stade végétatif

La marque foliaire peut être en V renversé ou longitudinale. Parmi les 28 écotypes considérés, il existait une association significative entre la marque foliaire et le type d'écotype étudié ($\chi^2 = 420$; $ddl = 27$; $p < 0,001$). La marque foliaire longitudinale est la plus fréquente (57,1 %) (figure 48).

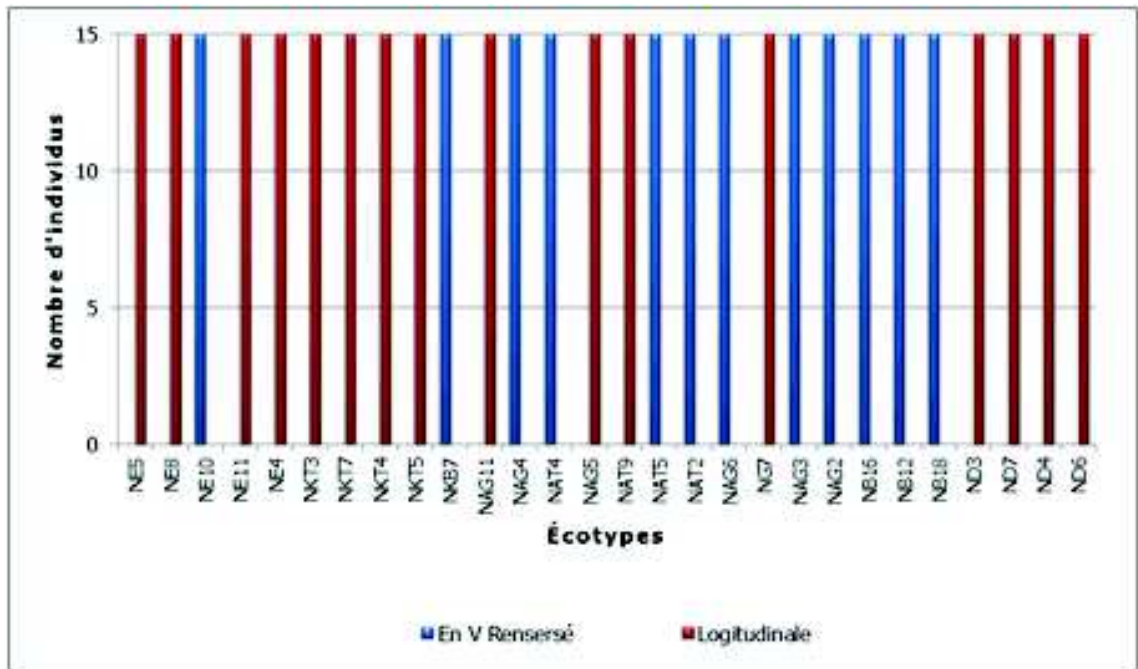


Figure 48 : Répartition de la marque foliaire selon les écotypes étudiés

La foliole terminale peut être ovale ou lancéolée. Il existe une relation significative entre le phénotype de la foliole terminale et l'écotype étudié ($Khi\ carré=279$; $ddl=54$; $p<0,001$). Le phénotype le plus fréquent est la foliole terminale ovale (64,3 %), suivi de la foliole lancéolée (35,7 %) (figure 49).

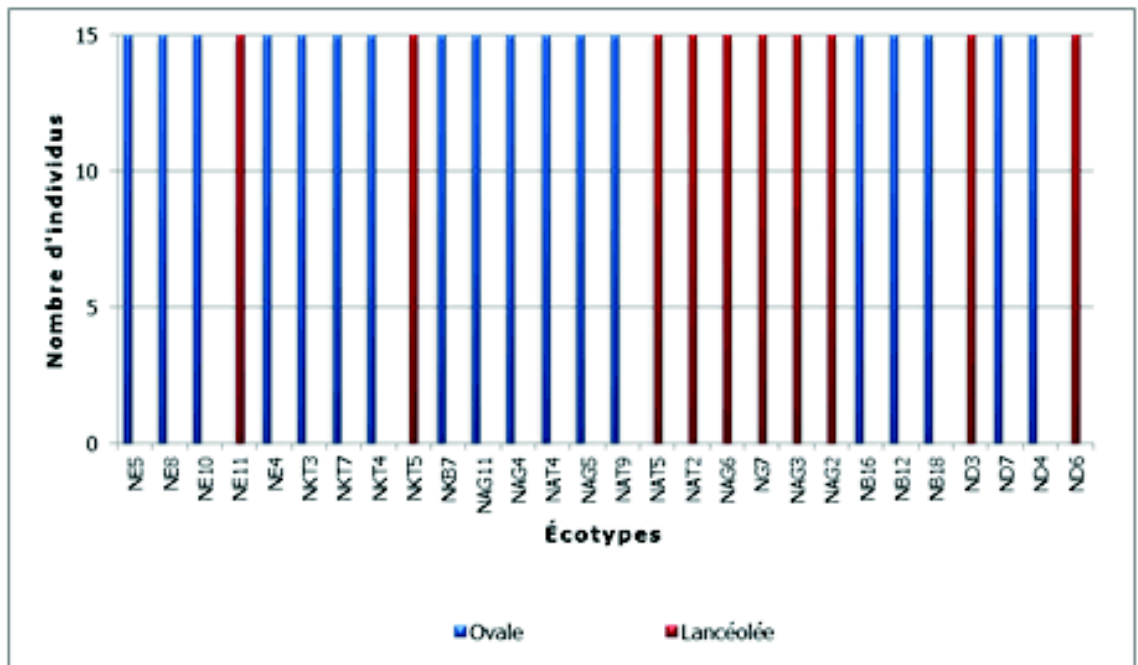


Figure 49 : Répartition de la forme de la foliole terminale selon les écotypes étudiés

Le type de croissance de la plante était indéterminé pour tous les écotypes étudiés. Parmi les 28 écotypes considérés, les phénotypes observés ont été semi érigé, semi rampant, érigé grimpant et rampant-grimpant. Il existe une relation significative entre

l'habitus de croissance et les écotypes ($\chi^2=1260$; $ddl=81$; $p<0,001$). Le phénotype le plus fréquent était l'habitus de croissance semi érigé (64,3 %) suivi de l'habitus de croissance semi rampant (17,9 %), érigé grimpant (14,3 %) et rampant-grimpant (3,6 %) (figure 50).

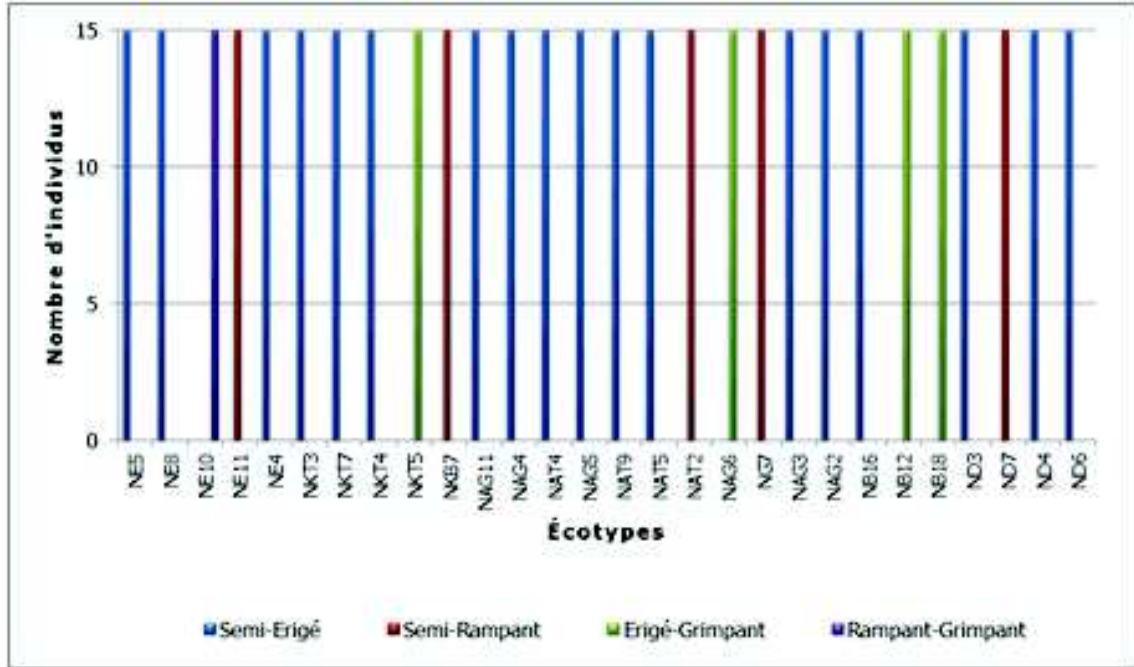


Figure 50 : Répartition de l'habitus de croissance en fonction des écotypes

L'abondance de la végétation est liée au développement végétatif. Ce caractère est fortement influencé par l'environnement, il est représenté par trois classes et considéré comme qualitatif pour les analyses statistiques. La végétation peut être très peu abondante, peu abondante ou abondante. Parmi les 28 écotypes considérés, 14 étaient hétérogènes pour le caractère abondance de végétation soit 50% (figure 51). Cependant, il existe une relation significative entre l'abondance de la végétation et les écotypes étudiés ($\chi^2=577$, $ddl=54$, $p<0,001$). Le phénotype le plus fréquent était une végétation abondante (56,9 %) suivi d'une végétation peu abondante (22,1%) et d'une végétation très peu abondante (21,0 %). Les écotypes en provenance du nord ont présenté une végétation plus abondante par rapport à ceux du sud. Les accessions du sud n'ayant pas fleuri ont présenté une végétation abondante.

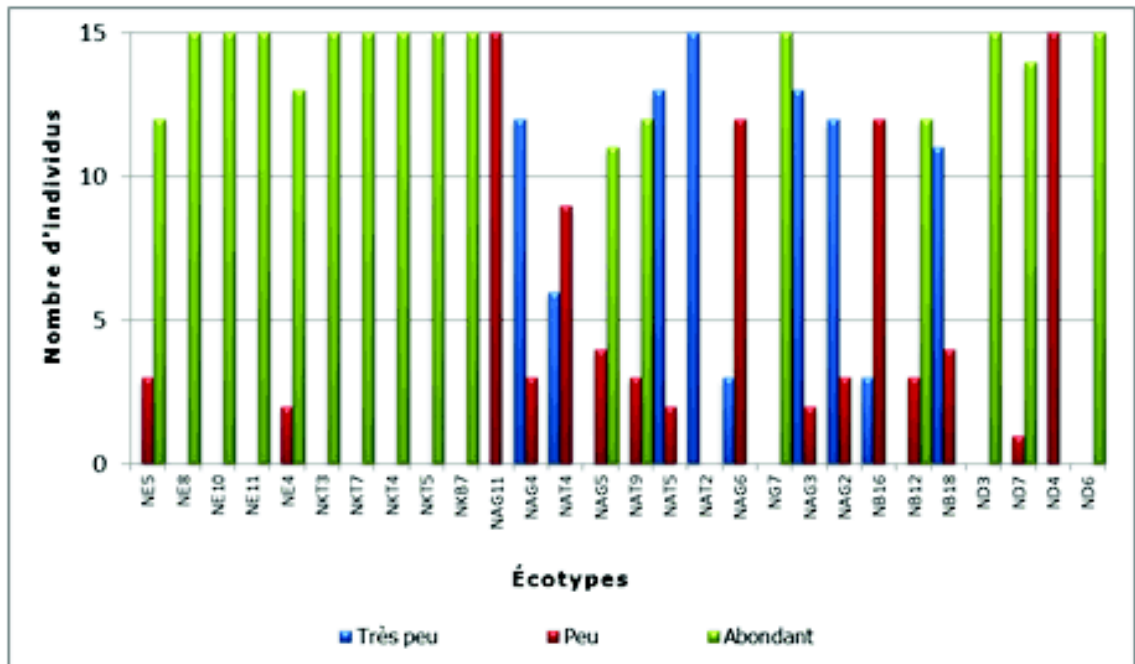


Figure 51 : Répartition de l'abondance de la végétation en fonction des écotypes.

3.2.2. Stade floraison

Sur les 28 écotypes, 22 ont été pris en compte car ils ont montré au moins 5 plants fleuris (sur 15). Trois différentes couleurs de la fleur ont été observées : blanche, mauve rose et violette foncée.

L'analyse de la table de contingence a indiqué un chi carré très significatif (chi carré = 634, ddl = 42, $p < 0,001$) indiquant une répartition non aléatoire de la couleur de la fleur en fonction de l'écotype. D'autre part, les écotypes considérés ont été homogènes puisqu'au sein d'un écotype tous les individus avaient la même couleur de fleur (figure 52).

Les écotypes peuvent être classés en trois groupes selon la couleur de la fleur. Le groupe avec des fleurs blanches (NE5, NE4, NKT3, NKT7, NKB7, NAG11 et NAG5) qui a été caractérisé par des graines à couleur holstein et par les graines de couleur crème et œil noir ou brun, le groupe avec des fleurs mauves-roses (NE8 et NKT4) a été caractérisé par des graines à couleur crème et à œil brun large et le groupe avec des fleurs violettes foncées (NE10, NE11, NKT5, NAG4, NAT2, NAG6, NG7, NAG2, NB16, NB18, ND4 et ND6) a été caractérisé par les graines de couleur noire, beige-brune, brune, brune-ocre et bruno-olive. En effet, une corrélation positive ($r = 0,517$, $P < 0,05$) a été observée entre la couleur de la fleur et la couleur de la graine.

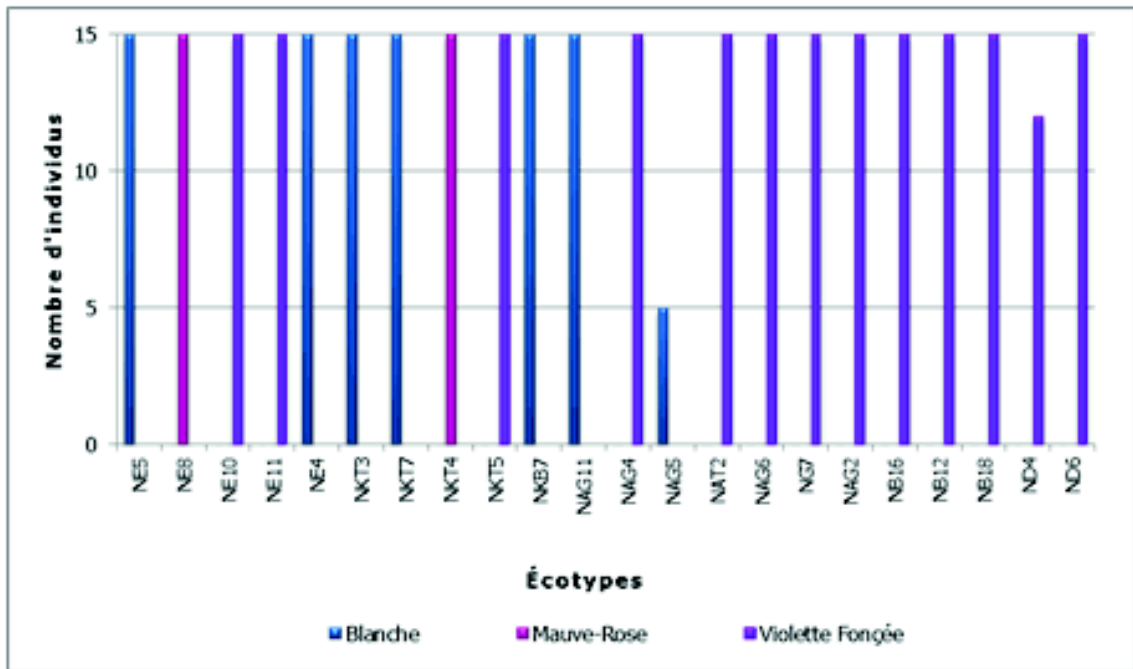


Figure 52 : Répartition de la couleur de la fleur selon les écotypes étudiés.

Si on considère la fréquence des couleurs de fleurs on constate que la couleur violette a été la plus fréquente (60,6 %) suivie par la couleur blanche (30,0 %) et la couleur rose-mauve (9,5 %).

Une tache blanche peut être présente sur l'étendard de la fleur du niébé. Soit cette tache est moyennement étendue et s'arrête sous la tache jaune soit elle est très étendue et s'étend au-delà de la tache jaune. Les individus des 22 écotypes considérés ont été homogènes au sein d'une même population (figure 53).

Il existe des différences significatives entre les écotypes pour le caractère étudié ($\chi^2 = 317$, ddl = 21 ; $p < 0,001$). L'étendue de la tache blanche sur l'étendard de la fleur a été négativement corrélée à la couleur de la fleur ($r = -0,514$, $p < 0,05$), les écotypes à fleurs blanches sont caractérisés par une tache blanche fortement étendue par rapport aux autres écotypes. Le phénotype tache moyennement étendue a été le plus fréquent (60,6 %) par rapport au phénotype tache fortement étendue (39,4 %).

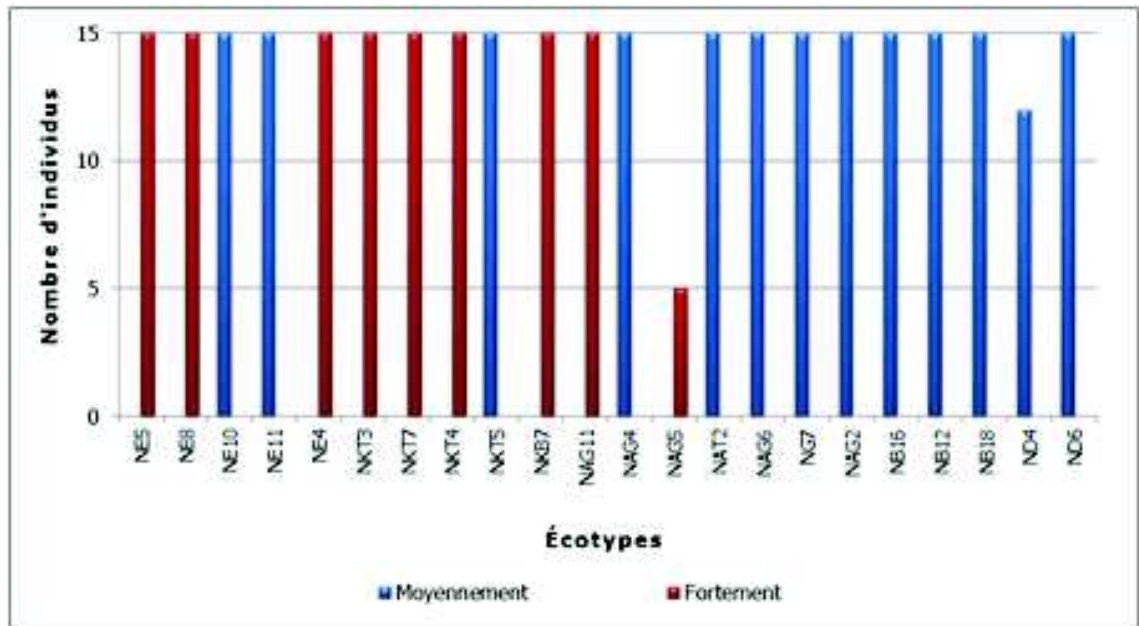


Figure 53 : Répartition de la tache blanche sur l'étendard de la fleur en fonction des écotypes

Si on considère la forme de la tache jaune sur l'étendard de la fleur, on peut la considérer comme formant 2 lobes séparés (1) ou deux lobes confluent à la base (2) ou encore deux lobes confluent à la base avec un lobe médian (3).

Les individus des 22 écotypes considérés ont été homogènes. L'analyse statistique a montré qu'il existe une différence significative entre les écotypes pour ce caractère (Khi carré = 634, ddl = 42, $p < 0,001$). Le phénotype TJ3 a été le plus fréquent (51,1 %) suivi du phénotype TJ2 (39,4 %) et du phénotype TJ1 (9,5 %) (figure 54).

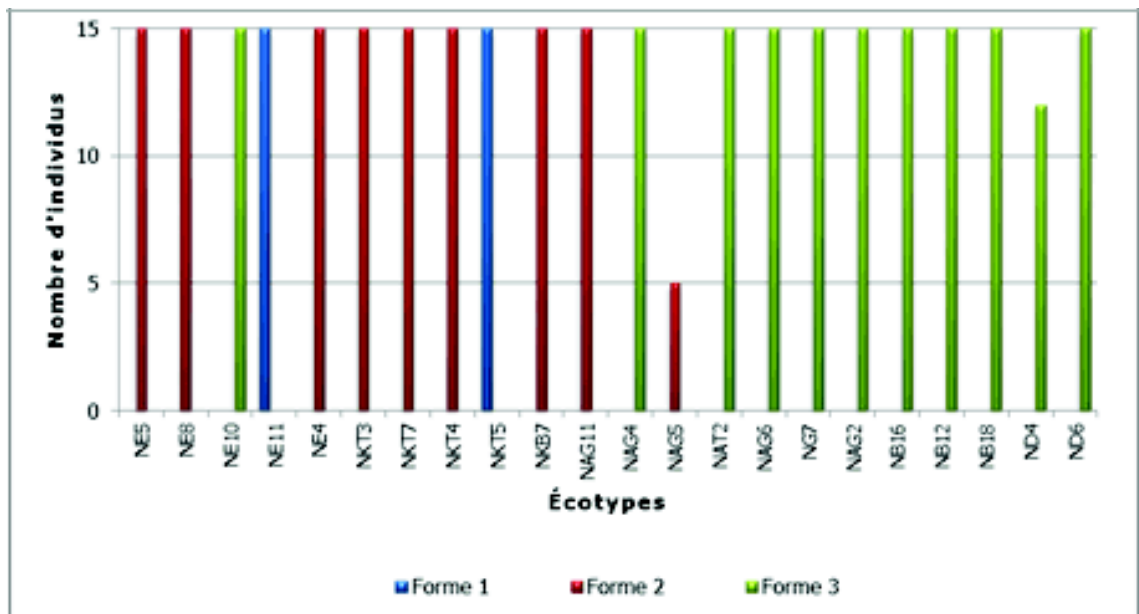


Figure 54 : Répartition de la forme de la tache jaune sur la fleur en fonction des écotypes

Concernant l'intensité de la tache violette sur l'étendard de la fleur, elle a été soit absente, soit moyenne ou forte (figure 55). Les individus à l'intérieur de chaque écotype ont été homogènes pour ce caractère et présentent le même phénotype. Il existe une différence significative entre les écotypes pour ce caractère ($\chi^2 = 944$; ddl = 63 ; $p < 0,001$).

L'intensité de la tache violette sur la fleur est corrélée positivement et de façon très hautement significative à la couleur de la fleur ($r = 0,995$, $p < 0,0001$). En effet, l'intensité de la tache augmente chez les écotypes à fleurs violettes foncées et elle est absente chez les écotypes à fleurs blanches. Le phénotype le plus fréquent est la présence d'une tache d'intensité forte (60,6 %), suivi de l'absence de tache (30 %) et de la présence d'une tache d'intensité moyenne (9,4 %).

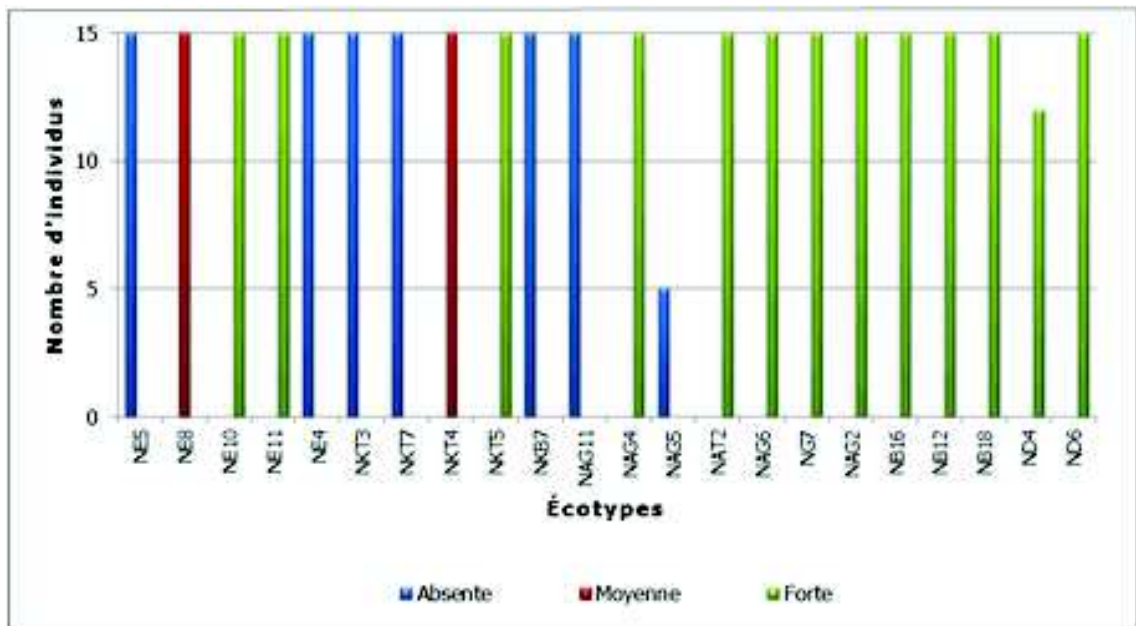


Figure 55 : Répartition de l'intensité de la tache violette en fonction des écotypes

3.2.3. Stades graines et gousses

La pigmentation a été soit présente ou absente sur les gousses. L'analyse de la table de contingence a indiqué un chi carré très significatif ($\chi^2 = 317$, ddl = 21, $p < 0,001$) indiquant une différence significative entre les écotypes pour ce caractère. D'autre part, les écotypes considérés ont été homogènes pour ce caractère puisque tous les individus du même écotype ont présenté ou non cette pigmentation (figure 56).

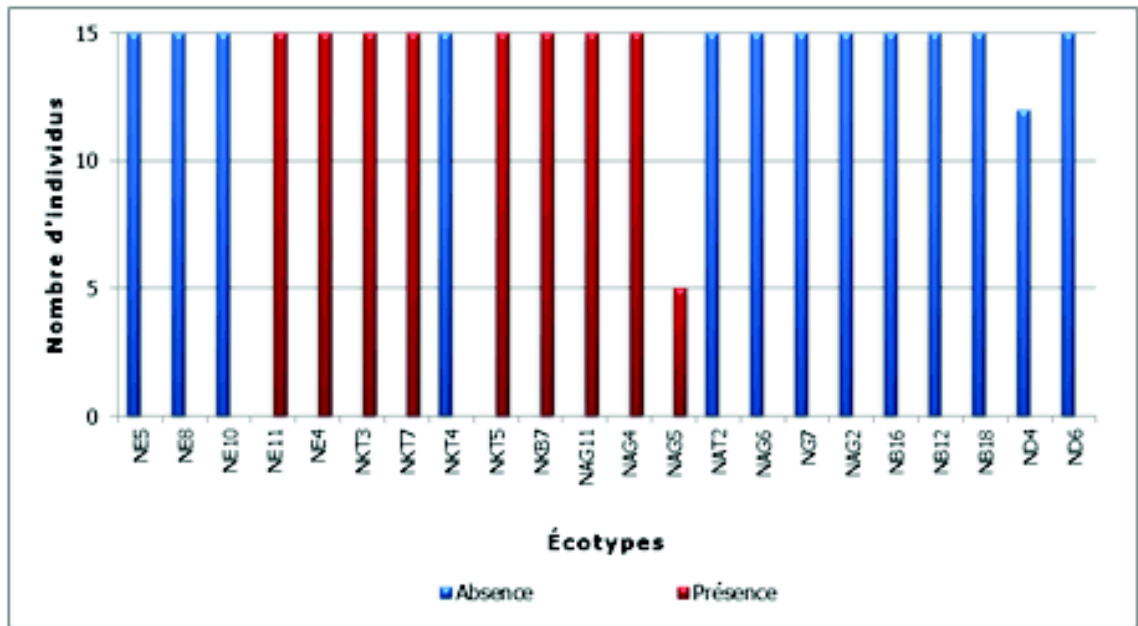


Figure 56 : Répartition de la pigmentation sur la gousse par écotype

On peut donc grouper les écotypes en fonction de la présence ou de l'absence de cette pigmentation. La pigmentation anthocyanique des gousses a été négativement corrélée à la couleur de la fleur ($r = -0,514$, $p < 0,05$). La pigmentation anthocyanique sur les gousses présente aussi une corrélation négative et très hautement significative avec l'intensité de la tache violette sur la fleur ($r = -0,543$, $p < 0,0001$) et avec la couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine ($r = 0,464$, $p < 0,0001$).



Figure 57.1 : Présence de pigmentation anthocyanique sur une gousse de l'écotype NAG11 caractérisée par des fleurs blanches et des graines crème et à œil noir



Figure 57.2 : Absence de pigmentation anthocyanique sur une gousse de l'écotype NE8 à fleurs roses et graines crèmes à œil brun large

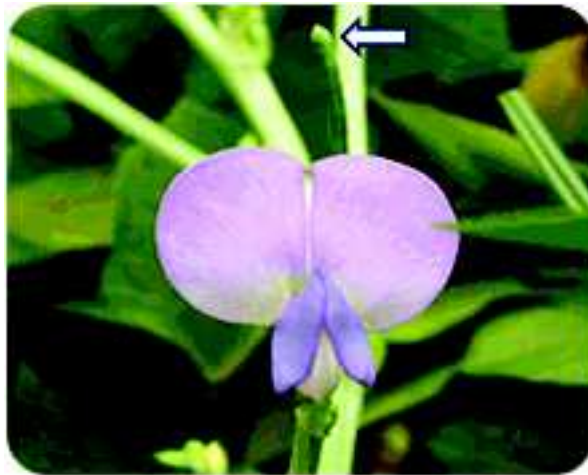


Figure 57.3 : Absence de pigmentation anthocyanique sur une gousse de l'écotype NAT5 à fleurs violettes et graines brunes

En effet, une pigmentation anthocyanique sur l'extrémité des gosses est présente chez les écotypes caractérisés par des graines de couleur crème à œil noir (figure 57.1), holstein et noire et elle est absente chez les écotypes à graines crème et à œil brun ou brun large (figure 57.2) et chez les écotypes à graines de couleur beige-brune (figure 57.3), brune, brune-olive et brune-ocre. Les écotypes sans pigmentation sont les plus fréquents (60,6 %) par rapport aux écotypes avec pigmentation (39,4 %).

La forme de la graine peut être réniforme, ovoïde, arrondie ou rhomboïde. Les 28 écotypes sont homogènes puisque ils présentent la même forme de graine au sein du même écotype. Il existe une relation significative entre la forme de la graine et l'écotype étudié ($\chi^2 = 1680$, ddl = 108, $p < 0,001$). Le phénotype le plus fréquent est la forme rhomboïde (35,7 %) suivi de la forme ovoïde (3,6 %), de la forme réniforme (25 %) et la forme arrondie (7,1 %) (figure 58).

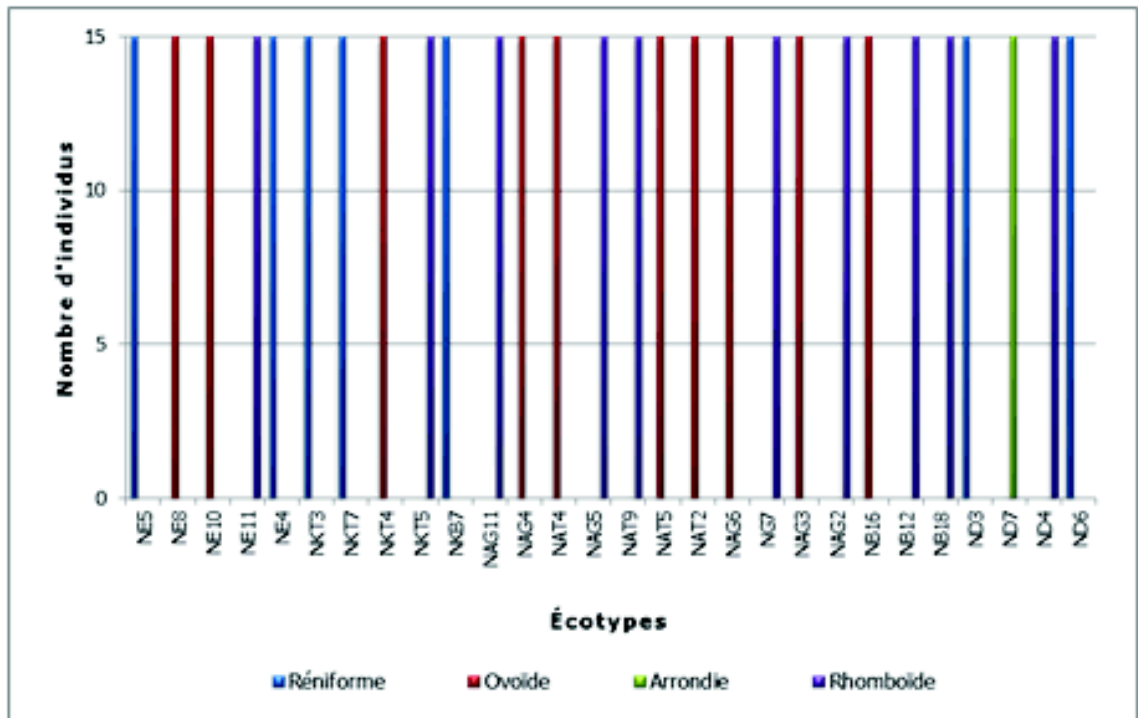


Figure 58 : Répartition de la forme de la graine selon les écotypes

La texture de la graine peut être lisse, lisse à rugueuse, rugueuse à ridée ou ridée. La texture a été homogène au sein des écotypes. L'analyse statistique a montré qu'il existe une différence significative entre les écotypes pour ce caractère ($Khi\ carré=1246$, $ddl=81$, $p<0,001$). L'écotype NKT7 avec des graines de couleur crème et œil noir a été le seul à présenter une texture ridée, les autres écotypes de la même couleur et à œil noir, brun ou brun large ont été caractérisés par des graines à texture lisse à rugueuse et rugueuse à ridée.

Les graines des autres couleurs généralement en provenance du sud ont été caractérisées par une texture lisse. En effet, la texture de la graine a été corrélée négativement à la couleur de la graine ($r = - 0,571$, $p<0,05$) et corrélée positivement à la couleur de l'œil de la graine ($r = 0,871$, $p<0,0001$), puisque toutes les accessions dépourvues d'œil ont présenté une texture lisse. Le phénotype le plus fréquent est la texture lisse (67,9 %) suivi de la texture lisse-rugueuse (21,4 %), de la texture rugueuse-lisse (7,1 %) et de la texture ridée (3,6 %) (figure 59).

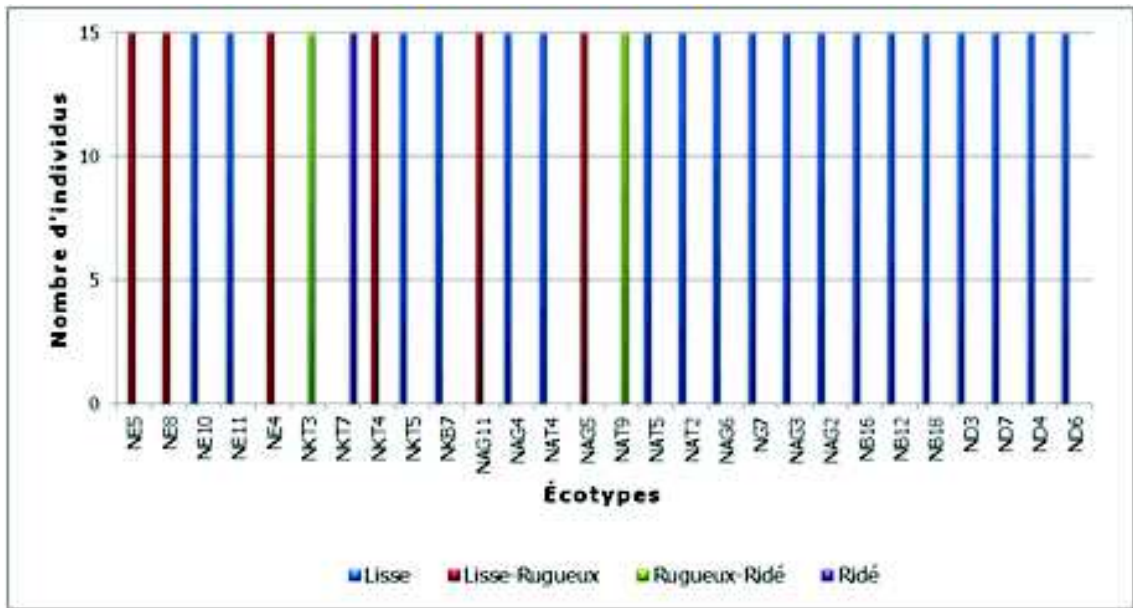


Figure 59 : Répartition de la texture de la graine selon les écotypes

La couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine peut être soit absente, soit brune, brune large ou noire. Ce caractère a été homogènes à l'intérieur des écotypes étudiés. Par contre, l'analyse statistique a montré une différence significative entre les accessions pour ce trait (Khi carré = 1260, ddl=81, $p < 0,001$). Les écotypes à couleur crème sont caractérisés par la présence d'un œil noir, brun ou brun large entourant le hile de la graine, alors que les autres écotypes sont dépourvus. En effet, la couleur de la graine est négativement corrélée à la couleur de l'œil de la graine ($r = -0,847$, $p < 0,0001$). Le phénotype le plus fréquent est l'absence de couleur (64,3 %) suivi de la couleur noire (21,4 %) et des couleurs brune et brune large (7,1 %) (figure 60).

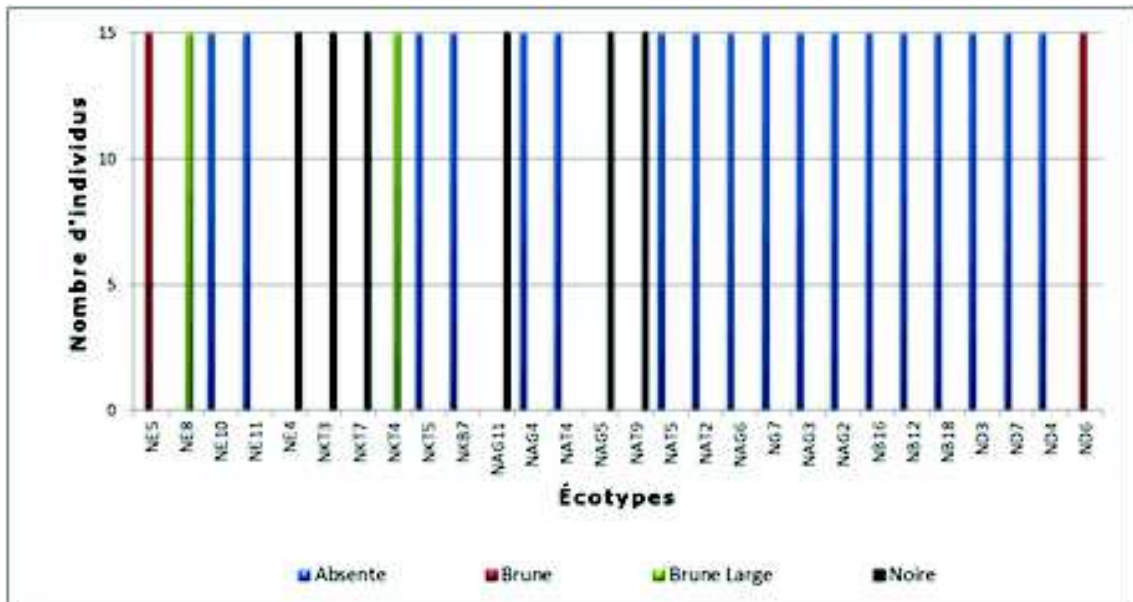


Figure 60 : Répartition de la couleur de l'œil du hile en fonction des écotypes

La couleur de la graine peut être blanche, crème, crème-brune, brune, brune-ocre, brune-olive, holstein, noire ou rouge. Les 28 écotypes étudiés ont été homogènes pour ce

trait. Il existe une association significative entre la couleur de la graine et les écotypes (khi carré=3360, ddl=216, p<0,001) (Figure 61).

Le phénotype le plus fréquent est la couleur de la graine crème (32,1 %) suivi de la couleur; de la graine crème brune (21,4 %), de la couleur de la graine noire (17,9 %), de la couleur de la graine brune olive (10,7 %) et des couleurs de graines blanche (3,6 %), brune (3,6 %), brune ocre (3,65 %), holstein (3,6 %) et rouge (3,6 %).

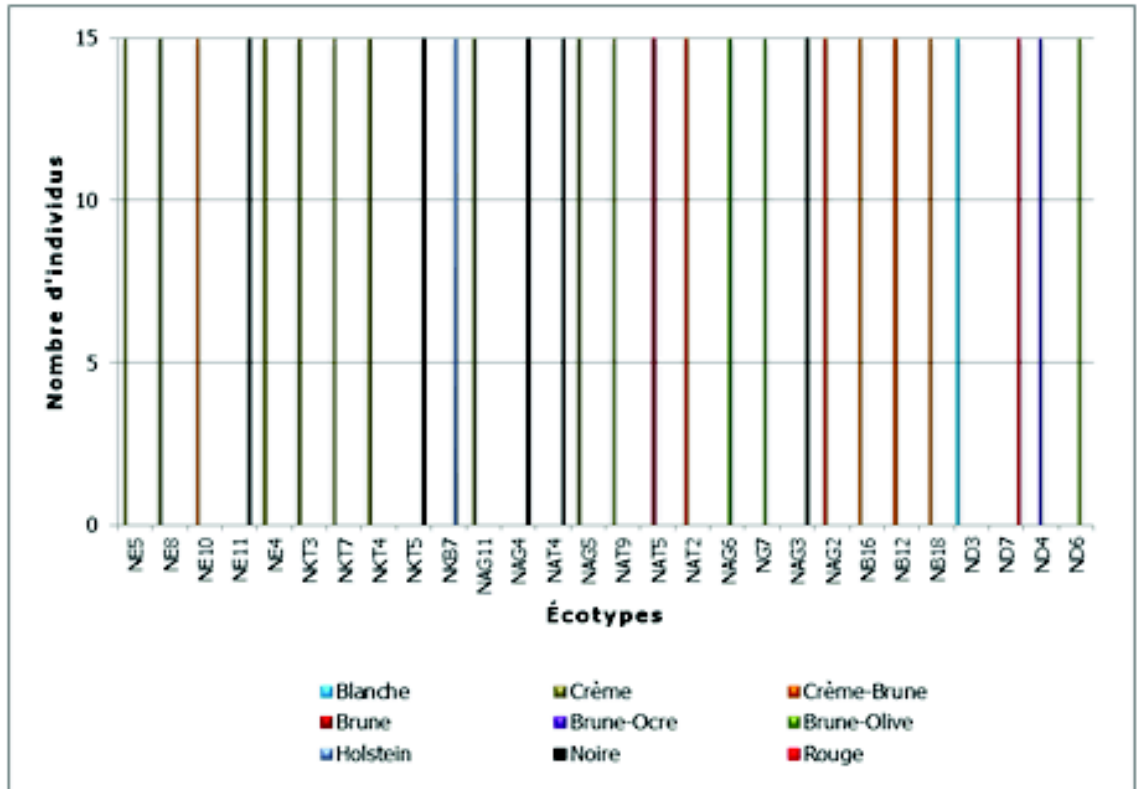


Figure 61 : Répartition de la couleur de la graine en fonction des écotypes

3.2.4. Analyse des Correspondances Multiples et Classification Ascendante Hiérarchique

Ces analyses ont permis de caractériser les écotypes de niébé en se basant sur l'ensemble des caractères qualitatifs liés aux stades végétatif, floraison, graines et gousses.

Les deux premiers axes de l'ACM totalisent 76,79 % de la variabilité existante (figure 62). Le premier axe a absorbé 65,43 % de la variabilité observée. Le deuxième axe a expliqué 11,36 % de la variabilité totale. La dispersion des individus dans le plan défini par les axes 1 et 2 de l'ACM a montré que la diversité génétique a été structurée en groupes distincts selon l'origine géographique et la morphologie des graines et des fleurs.

Les modalités couleur de la fleur blanche CF1 (6,0 %) et mauve CF3 (3,6 %), la tache blanche moyenne en dessous de la tache jaune TB1 (3,6 %) et forte au-delà de la tache jaune TB2 (6,3%), la forme de la tache jaune sur l'étendard de la fleur avec deux lobes confluent à la base FTJ2 (6,3 %) et deux lobes confluent à la base avec un lobe médian FTJ3 (3,3 %), l'intensité de la tache violette nulle IV0 (6,0 %) et forte à large IV3 (3,6 %), la marque foliaire en V renversé MF1(2,4 %) , la forme de la graine réniforme FG1 (3,5 %), la texture de la graine lisse TG1 (2,9 %), lisse à rugueuse TG2 (3,9 %), la couleur de la

graine crème CG2 (6,1 %), crème-brune CG3 (2,2 %), l'absence d'un œil sur la graine CO0 (2,9 %), l'œil noir entourant le hile de la graine CO3 (4,6 %) ont représenté 72,4 % de la variation totale de l'axe 1 (figure 62).

Le premier axe (figure 62) a opposé les modalités couleur de la fleur blanche CF1, pigmentation anthocyanique sur gousses PG1, la tache blanche forte au-delà de la tache jaune TB2, la tache jaune avec deux lobes confluent à la base FJ2, l'absence de tache violette sur l'étendard de la fleur ITV0, la marque foliaire longitudinale MF3, l'habitus de croissance semi-érigé HCR2, l'abondance de la végétation AV3, la forme réniforme de la graine FG1, la texture lisse à rugueuse de la graine TG2, la couleur crème de la graine CG2 et la couleur noire de l'œil qui entoure le hile de la graine CO3 aux modalités couleur de la fleur mauve CF3, absence de pigmentation anthocyanique sur les gousses PG0, tache blanche moyenne en dessous de la tache jaune TB1, tache jaune avec deux lobes confluent à la base avec un lobe médian sur l'étendard de la fleur FTJ3, intensité forte et large de la tache violette IV2, la marque foliaire en V renversé MF1, la forme ovoïde FG2 et la texture lisse de la graine TG1, la couleur crème– beige de la graine CG3 et l'absence de l'œil entourant le hile de la graine CGO0.

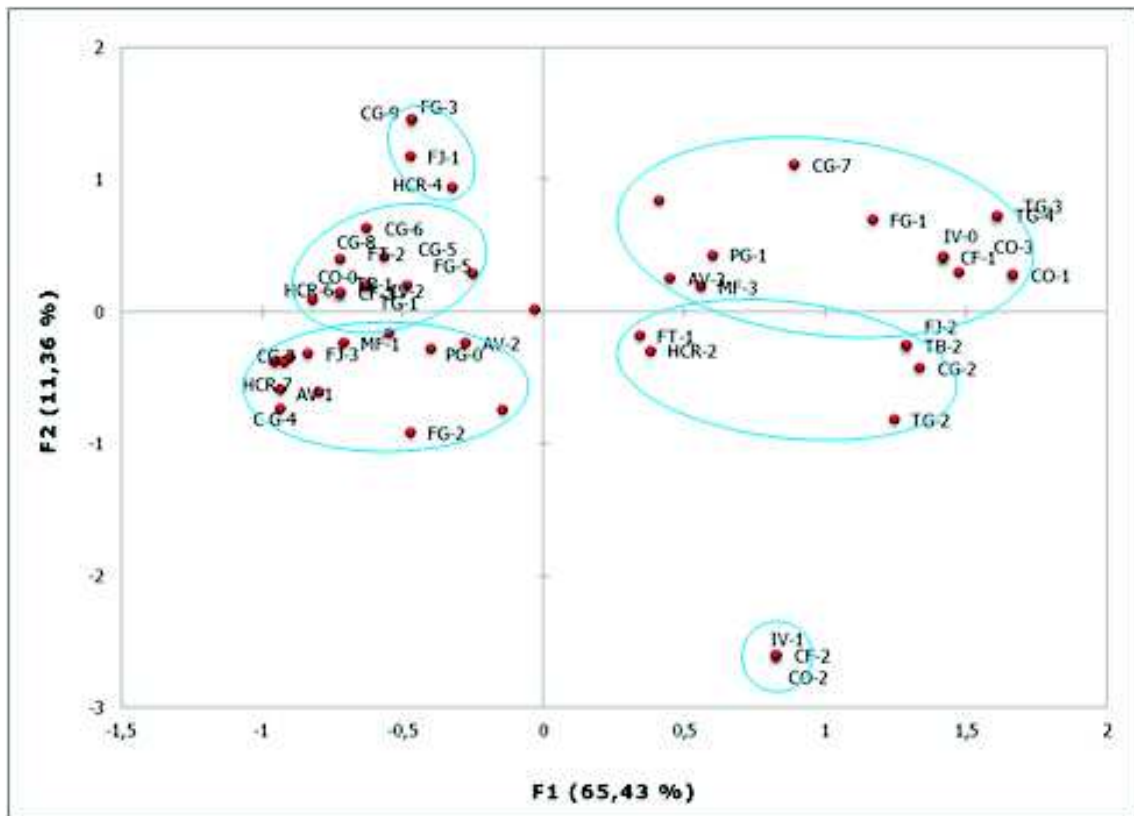


Figure 62 : Répartition des modalités des caractères qualitatifs sur le plan 1-2 de l'ACM

Les modalités couleur de la fleur rose CF2 (12,1 %), la forme de la tache jaune sur l'étendard de la fleur avec deux lobes latéraux séparés FTJ1 (6,2 %), l'intensité de la tache violette moyenne IV1 (12,1 %), l'habitus de croissance semi-rampante HCR4 (3,9 %), la forme de la graine réniforme FG1 (2,6 %) et ovoïde FG2 (6,8 %), la texture de la graine lisse à rugueuse TG2 (3,6 %), l'œil brun large entourant le hile de la graine CO2 (12,1 %) ont représenté 59,3 % de la variation totale de l'axe 2. En effet, l'axe 2 a opposé la forme de la tache jaune sur l'étendard de la fleur avec deux lobes latéraux séparés FTJ1, l'habitus

de croissance semi-rampante HCR4 aux modalités couleur de la fleur rose CF2, l'intensité de la tache violette moyenne IV2, la forme de la graine ovoïde FG2, la texture de la graine lisse à rugueuse TG2 et la couleur de l'œil CO2.

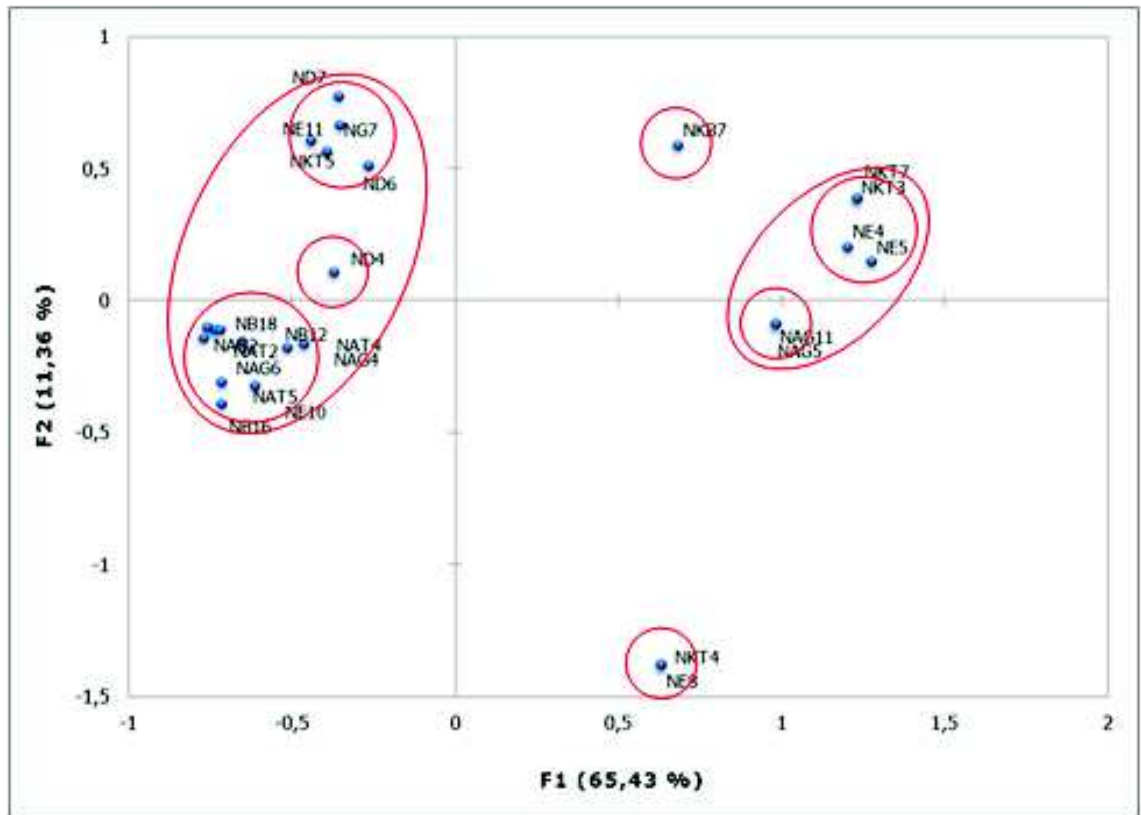


Figure 63 : Répartition de 25 écotypes locaux de niébé selon le plan défini par les axes 1 et 2 de l'ACM basée sur les caractères qualitatifs

L'analyse des correspondances multiples des écotypes étudiés selon les caractères qualitatifs a montré selon le plan des axes 1 et 2 le regroupement des écotypes en plusieurs groupes (figure 63). L'axe 1 qui représente 65,43 % de la variation totale, oppose les écotypes originaires du nord de l'Algérie NKT3, NKT7, NE4, NE5 et les écotypes NAG5, NAG11 originaires du Gourara caractérisés par des graines de couleur crème et à œil noir, des fleurs blanches, présence de pigmentation anthocyanique sur l'extrémité des gousses et d'une texture des graines lisses à rugueuses aux écotypes originaires des oasis du Sahara pour la majorité (à l'exception des écotypes NKT5, NE11 et NE10 originaires du nord) caractérisés par des graines de couleur noire, beige-brune, brune, brune-ocre et brune-olive, absence d'un œil entourant le hile de la graine, des fleurs de couleur violette foncée et d'une texture lisse des graines.

Il est à signaler que deux écotypes du sud NAG5 et NAG11 caractérisés par des graines crème à œil noir ont été classés avec les écotypes du nord avec le même morphotype. L'écotype NKT5 originaire de Kabylie et NE11 originaire d'El Kala caractérisés par des graines de couleur noire ont été classés avec les écotypes du sud et ont partagé les mêmes caractères que ces derniers. L'axe 1 a isolé aussi l'écotype ND4 originaire de Djanet caractérisé par des graines de couleur brune-ocre, fleurs de couleur mauve.

L'axe 2 a opposé les écotypes NKT3, NKT7, NE4 et NE5 à graines de couleur crème et à œil noir en provenance du nord aux écotypes NAG5 et NAG11 du sud (Gourara) de

la même couleur de l'œil et de la graine, mais présentant une végétation moins abondante par rapport à celles du nord. L'axe 2 a isolé les écotypes NE8 et NKT4 caractérisés par des graines de couleur crème, œil brun large, fleurs de couleur rose et absence de pigmentation anthocyanique sur les gousses.

L'axe 2 a aussi isolé l'écotype NKB7 caractérisé par des graines de couleur holstein noire et blanche, texture lisse, présence d'une pigmentation anthocyanique sur les gousses et des fleurs de couleur blanche collecté uniquement dans la région de Béjaia en Kabylie. Cet axe a séparé aussi l'écotype ND7 caractérisé par des graines de couleur rouge et forme arrondie des autres écotypes.

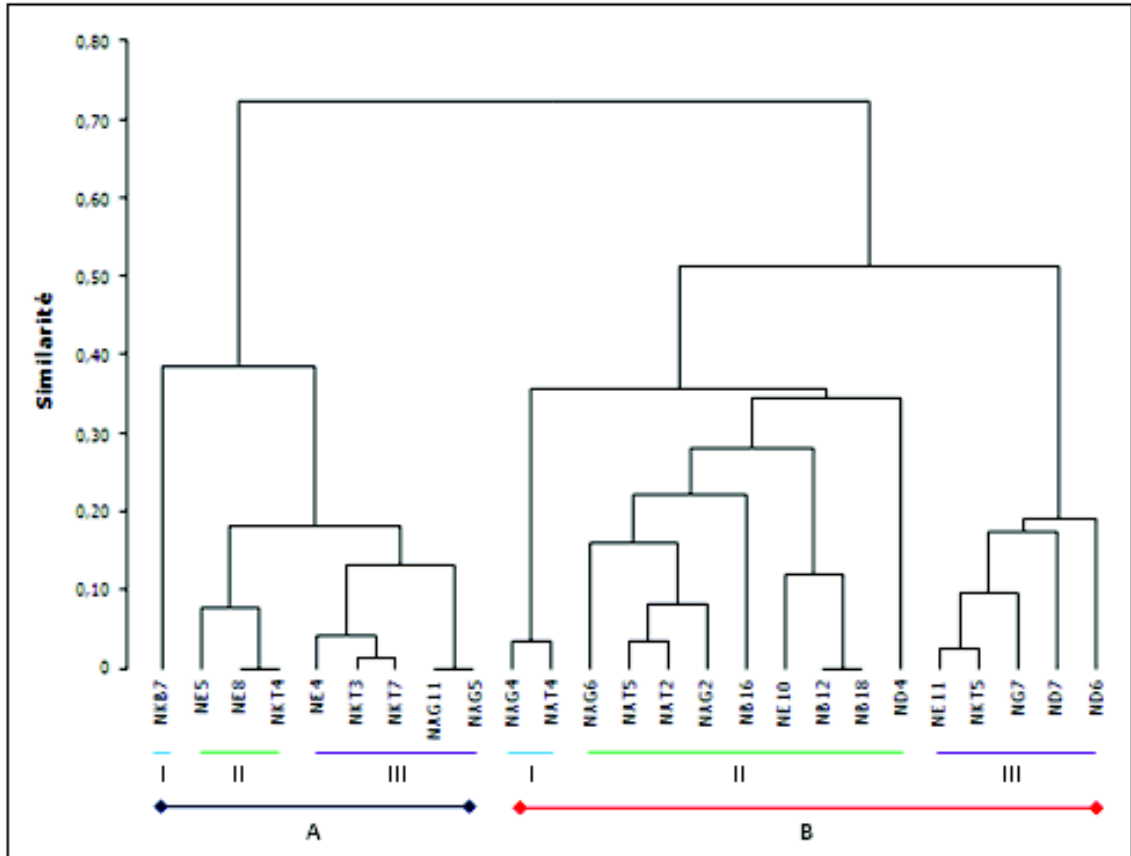


Figure 64 : Classification ascendante hiérarchique de 25 écotypes locaux de niébé selon les caractères qualitatifs

La classification ascendante hiérarchique de 25 des 28 écotypes étudiés selon les caractères qualitatifs a fait ressortir deux groupes distincts séparant en général les écotypes du nord des écotypes du sud sauf quelques exceptions (figure 64). Le premier groupe (A) est constitué de la majorité des écotypes en provenance du nord caractérisés par des graines de couleur crème, œil noir, fleurs blanches, textures rugueuse ou ridé avec présence de pigmentation anthocyanique sur les gousses. Ce groupe a été subdivisé en trois sous- groupes. Le premier sous-groupe (I) est constitué uniquement par l'écotype NKB7 caractérisé par des graines de couleur holstein, identifiées uniquement dans la région de Bejaia. Le deuxième sous-groupe (II) comprend les écotypes à graines crèmes, œil brun ou brun large et fleurs de couleur rose-mauve originaires d'El Kala et de la Kabylie. Le troisième sous-groupe (III) est représenté par les écotypes à graines crèmes et œil noir de la Kabylie et les écotypes du même phénotype originaires du Gourara, mais caractérisés

par une végétation peu abondante par rapport à ceux du nord. Le deuxième groupe (B) comprend la majorité des écotypes en provenance des oasis du Sahara. Ce groupe a été subdivisé en trois sous-groupes. Le premier sous-groupe (I) est représenté par les écotypes originaires du Touat et du Gourara caractérisés par des graines noires, des fleurs violettes et par la présence d'une pigmentation anthocyannique sur les gousses.

Le deuxième sous- groupe (II) est constitué par les écotypes à graines de couleur beige-brune, brune et brune-ocre caractérisés par une texture lisse des graines et par des fleurs violettes. Le troisième sous-groupe (III) est représenté par des écotypes présentant une végétation abondante caractérisés par des graines de couleur noire (originaires des régions d'El Kala et de Kabylie) et des graines de couleur brune-olive et, rouge. (en provenance de Djanet et d'El Goléa).

4. DISCUSSION

L'analyse statistique de l'ensemble des données agro-morphologiques a mis en évidence la présence d'une diversité au sein des écotypes locaux de niébé cultivés dans le Nord et dans le Sud de l'Algérie. L'analyse de la variance a montré une différence très hautement significative entre les écotypes pour l'ensemble des caractères quantitatifs étudiés. La mesure du coefficient de variation intra-écotypes a permis d'évaluer la variabilité existante au sein de la même population. Celle-ci était faible pour les caractères date de floraison, de nouaison et de maturité, le nombre de graines et d'ovules par gousse, le poids de cent graines, la longueur de la graine et de la gousse ; elle a été, cependant, élevée pour les caractères hauteur du plant et poids et nombre de gousses par plant.

La variabilité intra-écotype pour certains caractères quantitatifs est due au fait que ces derniers possédaient à l'origine une certaine hétérogénéité génétique, puisqu'ils sont issus uniquement de sélection massale réalisée par les paysans en multipliant les graines d'une génération à une autre. De plus, les écotypes du pays pourraient être un mélange de populations hétérogènes présentant des caractères qualitatifs assez stables mais aussi un important potentiel de variabilité leur permettant d'évoluer avec l'environnement. Elles peuvent être constituées de populations d'individus différents dont les caractères morphologiques quantitatifs ne sont pas tous fixés, ni stables, ni homogènes. Des études de caractérisations agro-morphologiques dans des sites différents présentant plusieurs situations de la diversité agro-écologiques de l'Algérie semblent intéressantes pour une meilleure caractérisation des écotypes de niébé cultivés en Algérie.

4.1. STADE VÉGÉTATIF

Une grande variabilité a été observée entre les écotypes étudiés durant le stade végétatif. La hauteur des plants était variable aussi bien à l'intérieur qu'entre les écotypes.

Une différence due à la forme de la marque foliaire présente sur la foliole du niébé a également été constatée entre les écotypes étudiés. Seules deux marques foliaires ont été identifiées, la marque en V renversé et la marque longitudinale. Cette dernière était la plus dominante. La marque foliaire a été utilisée par Pasquet, (1993a, 1994) et Echikh (2000) pour la caractérisation de formes sauvages de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Aliboh *et al.*, (1996) ont étudié l'héritabilité de la marque inversé en forme de V sur les feuilles des

variétés cultivées du niébé. Ils ont pu constater que ce caractère est contrôlé par un seul gène dominant.

Dans la présente étude, deux différentes formes de la foliole terminale ont été identifiées. La forme ovale et la forme lancéolée. La forme ovale était la plus présente parmi les écotypes étudiés. Ce caractère est considéré comme discriminant chez le niébé, la morphologie des feuilles a été déjà utilisée pour l'étude comparative de différents génotypes de *Vigna unguiculata* (Peksen *et al.*, 2005). Elle a été aussi utilisée par Padulosi (1993) et Echikh (2000) pour la caractérisation de formes sauvages de *Vigna unguiculata*.

L'habitus de croissance semi-érigé était le plus dominant chez les écotypes étudiés, avec la présence d'autres formes de croissance : semi-rampante, érigé-grimpante et rampante-grimpante. L'habitus de croissance peut être influencée par le milieu.

Selon Dagba et Remy (1990), des facteurs comme l'eau, la température et l'éclairement (intensité et durée) peuvent déterminer le port de la plante. Les deux formes de croissance, érigée et rampante ont déjà été identifiées chez le niébé cultivé (Uguru et Uzo, 1991). Dagba et Remy (1990) ont observé la présence chez le niébé de trois ports principaux (érigé, grimpant, rampant) et toute une gamme de ports intermédiaires.

D'une manière générale, les écotypes en provenance du nord ont présenté une végétation plus abondante par rapport à celles du sud. Cependant, les écotypes en provenance du Gourara, du Touat et de Djanet, présentant une faible ou carrément une absence de floraisons, ont montré une végétation plus abondante par rapport aux autres écotypes. Cela peut être expliqué par l'antagonisme naturel qui existe entre le développement végétatif et la floraison et par le fait que l'absence de la floraison soit la cause de la présence d'une végétation abondante.

4.2. STADE FLORAISON

La durée du semis à la floraison chez le niébé est une composante importante de l'adaptation du niébé à une zone agro-écologique particulière (Singh, 1986). L'époque de la floraison détermine la période de la récolte des gousses matures (Adeyanja *et al.*, 2007). La maturité précoce est une caractéristique agronomique relativement importante. Elle est prisée dans les régions cultivant le niébé en association avec les céréales (Adeyanja *et al.*, 2007).

Les écotypes étudiés ont montré une très grande variabilité vis-à-vis de la précocité de la floraison et de la maturité. D'une manière générale, les écotypes en provenance du nord de l'Algérie ont présenté une plus grande précocité par rapport aux écotypes en provenance du sud, sauf pour les écotypes NAG6, NB12 et NB18 du sud qui ont été classés avec les écotypes précoces du nord du pays.

Les écotypes en provenance des oasis du Sahara ont présenté une certaine variabilité vis-à-vis de l'induction de la floraison. Les écotypes NAT9, NAG3 et ND3 de Djanet n'ont présenté aucune floraison dans les conditions pédoclimatiques de notre essai. Certains écotypes (NAT4, NAG5, ND7, ND4) ont cependant fleuri tardivement avec l'apparition de fleurs uniquement sur quelques plants. Ceci est fort probablement dû à la grande variabilité dans les conditions climatiques des régions de provenance (température et photopériode).

Le démarrage de la floraison est fonction de la température et de la photopériode (Summerfield *et al.*, 1985), sachant que les régions du Sahara sont caractérisées par des températures plus élevées et une longueur du jour plus courte par rapport aux régions du nord du pays. Les écotypes présentant l'absence de floraison semblent être photosensibles

et fleurissent au-dessous d'une certaine longueur du jour qui semble présente dans les oasis du Sahara et absente dans le littoral algérois. Malgré que le niébé soit une plante de jours courts avec la présence d'un certain nombre de cultivars indépendants (Ehlers et Hall, 1996), certains génotypes de niébé sont sensibles à la photopériode (Ishiyaku *et al.*, 2005). Le degré de sensibilité à la photopériode est modifié par la température (Ehlers et Hall, 1996).

Au sein des écotypes du sud, une différence de précocité a été observée selon la couleur des graines. Les graines à couleur crème et à œil noir ont été les plus tardives, suivies par les graines noires et les graines beiges-brunes. Les formes à graines beiges brunes ont été plus précoces que les formes noires du Sahara ce qui coïncide avec les résultats de Echikh (2000) qui a relevé que les écotypes de niébé à graines beige-brunes étaient plus précoces par rapport aux écotypes à graines noires originaires des oasis du Sahara (Echikh, 2000).

Les formes à graines crème et à œil noir collectées dans le Sahara ont été introduites à partir du nord du pays, cette forme prédomine en Kabylie (voir chapitre 2 prospections et enquête). Ces formes ont présenté une absence ou une floraison plus tardive par rapport à celles du nord. De même, les formes à graines noires collectées en Kabylie et à El Kala et probablement originaires des oasis du Sahara (voir chapitre enquête et prospection) ont présenté une meilleure précocité par rapport à celles du sud. Cette différence dans la floraison peut être expliquée par l'adaptation de ces écotypes aux conditions agro-écologiques de leurs zones de culture. Selon Summerfield *et al.*, (1985), la photosensibilité de certains cultivars de niébé peut leur permettre une adaptation aux conditions locales.

Trois différentes couleurs de la fleur ont été observées : blanche, mauve rose et violette foncée. Une corrélation positive a été notée entre la couleur de la fleur et la couleur de la graine. En l'occurrence, les graines de couleurs holstein et crème à œil noir et brun ont présenté des fleurs de couleurs blanches. Les écotypes à couleur crème et œil brun large sont les seuls à avoir une couleur mauve-rose. Les autres écotypes à graines noires, beige-brunes, brunes, brunes-ocre, brunes-olive et rouges ont toutes des fleurs de couleur violettes foncée. Fery (1985) a constaté que les fleurs blanches résultent soit de l'absence du gène de couleur générale C ou des gènes complémentaires. En présence du gène C la graine est colorée, et la fleur est mauve. En son absence, la graine est blanche, ainsi que la fleur (Fery, 1985).

Selon Rachie (1985), la pigmentation anthocyanine est responsable de la couleur violette des fleurs qui est une caractéristique des variétés de niébé. Cet auteur a aussi constaté l'existence de quatre couleurs de fleurs principales chez le niébé; la couleur violette, contenant une forte concentration d'anthocyanine ; la couleur rose pâle contenant de petites quantités de pigmentation dans les ailes ; la couleur tachetée présentant une faible bande étroite de pigmentation le long du bord externe et la couleur blanche qui est complètement dépourvue d'anthocyanine.

Selon Fery (1985), la présence de pigmentation sur la fleur dépend d'un gène (facteur de couleur générale) et la présence d'anthocyanine dans les tissus des fleurs est le résultat d'une interaction de deux gènes dominants. La couleur violette de la fleur est dominante par rapport à la couleur blanche. La couleur blanche est contrôlée par un gène récessif (Yahaya, 2007).

4.3. STADES GRAINES ET GOUSSES

Le rendement est un caractère complexe, régi par de nombreux traits. Ainsi, tous les caractères morphologiques qui sont associés à un rendement plus élevé des graines ou qui apportent une contribution significative à la capacité de rendement seraient utiles dans les programmes d'amélioration du niébé.

Les caractères poids de gousses et nombre de gousses par plant sont liés au rendement. Une grande variabilité intra et inter écotypes a été observée pour ces caractères. Selon Aryeetey et Lainge (1973), le nombre de gousses par plante est un caractère à faible héritabilité ce qui rend la sélection pour ce caractère assez difficile et la grande influence de l'environnement pose problème.

D'un point de vue général, les écotypes originaires du sud ont été caractérisés par une faible productivité de gousses et de graines par rapport à ceux du nord, cette situation est la résultante de l'adaptation de ces écotypes aux conditions agro-écologiques défavorables du Sahara d'où ils sont originaires. Les accessions NAT2 et NAG11 originaires des oasis du Sahara ont été caractérisées par un plus faible poids de gousses. Deux écotypes en provenance du sud ont présenté une exception en produisant un poids de gousses élevé (NG7 et ND6). Ils semblent appartenir à un cultigroupe différent de celui des autres écotypes de niébé cultivés dans les oasis du Sahara.

Le poids de cent graines a montré moins de variabilité au sein des écotypes par rapport aux autres composantes du rendement. Ce caractère a été utilisé comme critère de classification pour situer les écotypes de niébé au sein des différents cultigrades (Pasquet, 1998 ; Chevalier, 1944). Les écotypes NKT7 et NKT3, à graines de couleur crème et œil noir en provenance de Kabylie, ont été caractérisés par le poids de cent graines le plus important. L'écotype NAT2 à graines de couleur beige-brune d'Adrar a présenté le poids de cent graines le plus faible.

Le nombre de graines et d'ovules par gousse est un caractère morphologique discriminant chez le niébé. Il a été utilisé par plusieurs auteurs pour la classification du niébé cultivé (Pasquet, 1998 ; Chevalier, 1944). Ces caractères ont été homogènes à l'intérieur des écotypes. Cependant, une grande variabilité a été enregistrée entre écotypes. Les écotypes ND6, NG7 et NKB7 ont été caractérisés par le nombre de graines par gousse le plus important.

Concernant le caractère longueur de la gousse, il a été homogène au sein des écotypes. L'écotype ND6 est caractérisé par les plus longues gousses, vient ensuite les écotypes NKB7 et NKT7. Les écotypes du sud ont présenté les plus petites gousses.

La taille des graines des écotypes locaux de niébé étudiés est très variable. L'écotype NKT7 à graines de couleur crème et à œil noir était caractérisé par les plus grandes graines (jusqu'à 1,45 cm de longueur). Les écotypes en provenance du nord du pays ont généralement une longueur de la graine supérieure à celle des écotypes du sud, sauf pour les écotypes NG7 et ND6 caractérisés par des graines de taille similaire à celle du nord. La taille des graines est un caractère important chez le niébé (Drabo *et al.*, 1984), elle influence directement sur la productivité et, ensemble avec la couleur de la graine détermine la qualité de la graine pour la commercialisation (Lopes *et al.*, 2003). Les grandes graines sont capables de sortir plus rapidement de la profondeur du sol et de lever plus rapidement (Evans, 1981).

Leleji (1976) et Drabo *et al.* (1985) ont observé une dominance partielle de petites graines sur les grandes graines. L'héritabilité de la taille des graines semble être contrôlée par six à dix paires de gènes (Aryeetey et Laing, 1973; Leleji, 1976; Drabo *et al.*, 1985).

Les caractères qui constituent les composantes de rendement ont été corrélés entre eux. La longueur de la graine découle directement de la longueur de la gousse et du nombre de graines par gousse. Doku (1970) a aussi constaté que le rendement en graines par plante était positivement corrélé avec le nombre de gousses par plante. Les composantes du rendement ont été aussi corrélées positivement à la date de floraison. Les écotypes précoces ont, en effet, montré une meilleure productivité par rapport aux écotypes tardifs. Les grandes graines ont présenté un poids élevé et un meilleur rendement.

Les écotypes étudiés ont été caractérisés par la présence ou l'absence de pigmentation anthocyanique sur l'extrémité des gousses immatures. La pigmentation anthocyanique sur la tige, les feuilles, les fleurs, les graines ou les gousses est l'un des caractères morphologiques les plus importants, utilisés pour décrire et / ou identifier les cultivars de niébé (Othman *et al.*, 2006). La pigmentation anthocyanique des gousses a été négativement corrélée à la couleur de la fleur et à l'intensité de la tâche violette sur la fleur et positivement corrélée à la couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine. Une pigmentation anthocyanique sur l'extrémité des gousses est présente chez les accessions caractérisées par des graines de couleur crème à œil noir, holstein et noire, et elle est absente chez les accessions à graines crème et à œil brun ou brun large et chez les accessions à graines de couleur beige-brune, brune, brune-olive et brune-ocre. La forme de la graine chez les écotypes locaux de niébé a été soit réniforme, ovoïde, arrondie ou rhomboïde.

La forme ovoïde a prédominé au sein des écotypes en provenance du sud, alors que les formes rhomboïde et réniforme ont caractérisé les graines de couleur crème à œil noir ou brun. La forme arrondie a été identifiée uniquement chez l'écotype ND7 de Djanet.

Les écotypes locaux ont aussi été caractérisés par quatre différents types de texture du tégument (lisse, lisse à rugueuse, rugueuse à ridée, ridée). La nature du tégument est une caractéristique importante pour la consommation du niébé (Singh et **Ishiyaku, 2000**).

Le tégument rugueux à ridé est toujours avantageux d'un point de vue culinaire : le tégument est facile à retirer et la cuisson est plus rapide (Pasquet et Fotso, 1994). Ebong (1970) a signalé la présence de trois catégories de texture du tégument de la graine (lisse, rugueuse et ridée) chez le niébé cultivé au Nigéria. La texture de la graine a été corrélée négativement à la couleur de la graine et positivement à la couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine. En effet, toutes les accessions dépourvues d'œil ont présenté une texture lisse. L'écotype NKT7 avec des graines de couleur crème et œil noir a été la seule à présenter une texture ridée, les autres écotypes de la même couleur et à œil noir, brun ou brun large étaient caractérisés par des graines à texture lisse à rugueuse et rugueuse à ridée. Les graines ayant d'autres couleurs, généralement en provenance du sud, étaient caractérisées par une texture lisse.

Fery (1985) a observé deux types de téguments chez le niébé, l'un épais, lisse et plus ou moins brillant et l'autre mince, ridé et mat. Ces deux types semblent être déterminés par au moins deux gènes et le phénotype à tégument lisse est dominant. Toutefois, Singh et Ishiyaku (2000) ont constaté que la texture rugueuse du tégument de la graine est contrôlée par deux gènes complémentaires. Deux paires de gènes récessifs indépendants confèrent une texture rugueuse au tégument de la graine chez le niébé et la présence d'au moins un gène dominant responsable du caractère tégument lisse (Singh et **Ishiyaku, 2000**).

Concernant la couleur de la graine, plusieurs couleurs ont été identifiées chez les écotypes locaux de niébé étudiés. Les graines à couleur crème et à œil noir ont prédominé en Kabylie, La couleur crème à œil brun est la plus présente dans la région d'El Kala, Les graines à couleur beige-brune, brune et noire sont les plus représentées dans les oasis du

Sahara. La couleur de la graine est déterminée par le gène C (general color factor), associé aux gènes contrôlant les types de pigments - anthocyanine acide, anthocyanine basique et mélanine - dans les différentes couches du tégument. Le gène C est dominant (Fery, 1985). En 1914, Mann cité par Fery (1985) a montré que l'anthocyanine et la mélanine sont des substances responsables de la couleur chez le niébé et l'expression des pigments sur la plante. Ces substances sont dues à l'interaction entre les gènes de plusieurs pigments et un gène « general colour factor C ». La pigmentation est dominante par rapport à l'absence de pigmentation et ce caractère est contrôlé par deux gènes qui semblent être complémentaires (Padi, 2003 ; Yahaya, 2007).

La couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine a été soit absente, soit brune, brune large ou noire. Les accessions à couleur crème sont caractérisées par la présence d'un œil noir, brun ou brun large entourant le hile de la graine, alors que les autres accessions y sont dépourvues. Selon Padi (2003), la couleur noire de l'œil de la graine est dominante par rapport à la couleur brune.

Les analyses multivariées ACP, ACM et CAH ont permis de grouper les écotypes étudiés selon leur similarité par rapport aux caractères quantitatifs et qualitatifs. Les résultats obtenus ont montré que la variabilité génétique observée a été structurée selon l'appartenance géographique. Une opposition nette entre les accessions du nord et du sud du pays a été mise en évidence.

Les accessions originaires des oasis du Sahara sont plus tardives et présentent de faibles rendements par rapport à celles du nord.

Les écotypes ND6 et NG7 ont formé un groupe à part avec NKB7. La taille de leurs gousses et le nombre de graines et d'ovules par gousse, laissent supposer qu'ils appartiennent au cultigroupe *Unguiculata* caractérisé par des gousses pendantes de 13 à 30 centimètres de long, des graines compressées dans la gousse et un nombre d'ovules élevé, supérieur à 16 (Pasquet et Baudoin, 1997 ; Pasquet, 1998).

Les écotypes NAT2, NAG4 et NAG2 originaires d'Adrar caractérisés par la floraison la plus tardive, par le nombre de graines et d'ovules le plus faible et par les plus petites graines et gousses forment un groupe isolé et semblent appartenir au cultigroupe *Biflora*. Le cultigroupe *Biflora* rassemble des cultivars à gousses plutôt courtes, à faible nombre de locules et des graines à tégument lisse, les graines et les fleurs sont le plus souvent colorées (Pasquet et Fotso, 1994 ; Pasquet et Baudoin, 1997 ; Pasquet, 1998). Le cultigroupe *Biflora* est rencontré, d'après Chevalier (1944) dans toute la zone soudano-sahélienne du nord de l'Afrique ainsi que dans les oasis du Sahara. Ces cultivars sont photosensibles ou photo-indépendants précoces (Pasquet, 1998).

Les écotypes originaires des oasis du Sahara et les accessions NKT5, NE11 et NE10 originaires du nord caractérisés par des graines de couleur noire, beige-brune, brune et brune-ocre, absence d'un œil entourant le hile de la graine, des fleurs de couleur violette foncée et d'une texture lisse des graines semblent appartenir aussi au cultigroupe *Biflora*. Ces résultats sont en accord avec la classification réalisée par Echikh (2000) qui a situé les écotypes à graines noires et beiges-brunes collectés dans les oasis du Sahara algérien au sein du cultigroupe *Biflora*.

Les écotypes en provenance de la Kabylie et d'El Kala ont été caractérisés par une floraison précoce et une meilleure productivité (poids de gousses/plant, poids de cent graines et nombre de graines par gousse), des graines de couleur crème à œil noir, brun ou brun large, des fleurs de couleurs blanches ou roses et une texture des graines lisse à rugueuse ou rugueuse à ridée. Les écotypes NAG5, NAG11 originaires du Gourara ont été

caractérisés par les mêmes traits qualitatifs que les écotypes à graines crèmes et à œil noir du nord, mais ont cependant une floraison tardive ou absente, une faible productivité et une petite taille des graines et des gousses. Tous ces écotypes peuvent être classés au sein du cultigroupe *Melanophtalmus* qui rassemble les cultivars photosensibles à gousses à faible nombre de locules (inférieur à 17) mais à gousses souvent de grande taille, à graines ayant un tégument fripé au lieu de lisse et à fleurs et graines partiellement blanches (Pasquet et Fotso, 1994 ; Pasquet et Baudoin, 1997 ; Pasquet, 1998). Cette classification est en accord avec celle réalisée par Echikh (2000) qui a classé les écotypes à graines crème et à œil noir ou brun collectées en Kabylie au sein du cultigroupe *Melanophtalmus*.

Les écotypes NAG11, NAG5 et NAT9 caractérisés par un morphotype similaire à celui qui prédomine en Kabylie (graines crème à œil noir) ont été plus tardifs et moins productifs que les morphotypes identifiés en Kabylie. En revanche, les écotypes NKT5, NE11 de couleur noire et NE10 de couleur beige-brune collectées dans le nord du pays ont été caractérisés par la même morphologie que ceux originaires du Sahara, mais ont présenté une meilleure précocité et productivité. Cela est dû au fait que ces écotypes ont été probablement introduits depuis fort longtemps dans des régions (chapitre 2 : Prospections et enquête) présentant des conditions agro-écologiques différentes par rapport à leur région d'origine et se sont adaptées aux nouvelles conditions.

5. CONCLUSION

L'évaluation de la variabilité agro-morphologique de 28 écotypes de niébé collectés en Algérie a mis en évidence l'existence d'une variabilité génétique assez importante entre eux.

L'analyse de la variance a montré une différence très hautement significative entre les écotypes pour l'ensemble des caractères quantitatifs étudiés.

Outre les différences marquées entre les écotypes, les analyses multivariées indiquent une relation entre la structuration des écotypes et leur origine géographique, d'une part, et leurs caractéristiques morphologiques, d'autre part (proximité des accessions présentant la même origine géographique ou les mêmes caractéristiques morphologiques).

D'une manière générale, les écotypes en provenance du nord présentaient un meilleur développement végétatif, une meilleure précocité et une meilleure productivité par rapport aux écotypes en provenance du sud du pays.

Par ailleurs, les groupes obtenus ont permis de caractériser les différents écotypes du point de vue morphologique et de les classer au sein des différents cultigroupes de *Vigna unguiculata*. Trois cultigroupes ont été identifiés : le cultigroupe *Melanophtalmus* a prédominé dans le nord du pays (Kabylie, El Kala), le cultigroupe *Biflora* a été le plus identifié dans les oasis du Sahara et *Unguiculata* a été représenté par trois écotypes seulement originaires des régions d'El Goléa, Djanet et Béjaïa.

Cette caractérisation a également permis d'identifier les écotypes à intérêt agronomique pour d'éventuels travaux d'amélioration. Ainsi, certains écotypes tels que NKT3 et NKT7 ont pu être identifiés, présentant des caractéristiques morphologiques d'intérêt agronomique, comme une floraison précoce et une productivité importante.

Étant donné que la plus grande partie de la diversité génétique du niébé se trouve en Afrique, une caractérisation des écotypes locaux algériens en utilisant comme référence des

cultivars africains déjà caractérisés, pourrait nous éclairer d'avantage sur le comportement et la structure de la diversité génétique de cette espèce et nous aider à mieux situer la diversité génétique de cette espèce en Algérie par rapport à celle déjà existante en Afrique.

Ce travail doit être enrichi par une étude du comportement des écotypes locaux de niébé dans des sites présentant des conditions agro-écologiques différentes, ce qui permettra d'étudier l'interaction génotype-environnement et aussi à mieux les évaluer pour les traits phénotypiques ou agronomiques quantitatifs qui sont fortement influencés par le milieu.

L'évaluation de la diversité génétique des écotypes locaux de *Vigna unguiculata* par la caractérisation agro-morphologique présente certaines limites étant donné que l'information génétique fournie est surtout limitée par l'expression des traits quantitatifs qui sont influencés par le milieu. En réponse à ces contraintes la caractérisation moléculaire doit être utilisée pour infirmer ou confirmer les résultats obtenus par la caractérisation agro-morphologique et pour identifier les génotypes en surmontant les problèmes résultant de la classification basée sur le phénotype.

CHAPITRE 4: ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ MORPHOLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE DE QUELQUES ÉCOTYPES ALGÉRIENS DE NIÉBÉ (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)

1. INTRODUCTION

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., est la principale légumineuse alimentaire d'Afrique tropicale. Cette espèce est cultivée dans toutes les zones intertropicales et même au-delà (bassin méditerranéen, Iran, Chine, sud des États-Unis...) (Pasquet, 1993a). Elle a été identifiée en Algérie où elle est cultivée dans différentes régions caractérisées par d'énormes contrastes, tant au niveau géographique et écologique que dans les pratiques agricoles, allant de la région méditerranéenne au nord jusqu'au Sahara au sud du pays.

En Algérie, les traits morphologiques ont été traditionnellement utilisés pour la caractérisation du niébé. Ils ont constitué l'unique outil discriminant des différents écotypes de cette espèce. Cependant, ces caractères sont souvent influencés par les facteurs environnementaux et par la pression de la sélection spécialement pour les caractères quantitatifs (Leakey, 1988).

Actuellement, les marqueurs moléculaires hautement héritables, disponibles en grand nombre et souvent suffisamment polymorphe permettent la discrimination de génotypes proches. Dans les dernières années, différents types de marqueurs moléculaires incluant la RAPD (Nkongolo, 2003 ; Ba *et al.*, 2004 ; Badiane *et al.*, 2004 ; Sarutayophat *et al.*, 2007 ; Dikshit *et al.*, 2007 ; Zannou *et al.*, 2008), l'AFLP (Menendez *et al.*, 1997 ; Ouédraogo *et al.*, 2002), la SSR (Li *et al.*, 2001 ; Gillaspie *et al.*, 2005 ; Diouf et Hilu, 2005) et l'ISSR (Ajibade *et al.*, 2000) ont été utilisés pour étudier la diversité génétique du niébé.

La technique RAPD est communément utilisée puisque c'est une technique simple, rapide, peu coûteuse. Elle demande peu d'investissement technique et fournit beaucoup de polymorphismes avec peu d'ADN (Welsh et McClelland, 1990). Cependant, la RAPD est critiquée en raison de son caractère dominant et parce que les profils des bandes ne sont pas toujours reproductibles et fiables (Jones *et al.*, 1997).

Les marqueurs ISSR sont considérés comme plus discriminant que les marqueurs RAPD (Qian *et al.*, 2001). L'ISSR est une méthode relativement simple au niveau technique (Liu et Wendel, 2001 ; Bornet et Branchart, 2001). Les marqueurs ISSR permettent de combiner l'intérêt d'une technique multi-locus (données de type présence/absence) avec un niveau de polymorphisme très élevé (de type microsatellite). Cette technique est donc intéressante sur des espèces faiblement polymorphes et permet de distinguer des variétés génétiquement très proches (Fang et Roose, 1997 ; Prevost et Wilkinson, 1999 ; Nybom, 2004).

L'ISSR est plus reproductible que la RAPD et donc fiable pour des objectifs d'empreintes génétiques (Zietkiewics *et al.*, 1994 ; Prevost et Wilkinson, 1999 ; McGregor

et al., 1999 ; Nybom, 2004). Cette reproductibilité élevée des ISSR est due à la longueur des amorces (16-25 paires de bases) qui diminue le risque d'hybridation non spécifiques alors qu'en RAPD l'utilisation d'amorces plus courtes rend le résultat moins reproductible (Pradeep Reddy *et al.*, 2002).

Le coût des techniques ISSR et RAPD est faible à modéré (Goodwin *et al.*, 1997; Prevost & Wilkinson, 1999 ; Nybom, 2004; Spooner *et al.*, 2005). La technique nécessite de faibles quantités d'ADN (Bornet & Branchard, 2001 ; Spooner *et al.*, 2005). Comme pour la RAPD, la technique ISSR est limitée car les bandes sont évaluées comme des marqueurs dominants, et que la diversité génétique est estimée sur la base de caractéristiques dialléliques (1= présence de la bande, 0= absence de la bande) (Xue-Jun *et al.*, 2005).

Le potentiel des marqueurs ISSR est énorme. Les principales applications sont l'identification de variétés (type empreintes génétiques), les études de diversité génétique, les analyses phylogénétiques, la sélection assistée, les cartes génétiques et la biologie de l'évolution dans un large éventail d'espèces (Pradeep Reddy *et al.*, 2002).

La technique ISSR s'est avérée être une méthode fiable et adaptée pour l'étude de la diversité génétique de nombreuses espèces et pour divers programmes de conservation de germoplasme (Bornet *et al.*, 2002).

En Algérie, aucune étude moléculaire n'a été réalisée jusqu'à présent pour évaluer la diversité génétique des écotypes de niébé. Vu l'importance de l'analyse moléculaire dans les études de diversité et l'identification des cultivars, nous avons entrepris dans le cadre de ce travail une caractérisation moléculaire de 20 écotypes locaux de *Vigna unguiculata*.

L'objectif de cette étude était de déterminer la variabilité génétique et de comparer 20 écotypes de niébé provenant de zones agro-écologiques différentes de l'Algérie en se basant sur des marqueurs morphologiques et génétiques (RAPD et ISSR). De plus, les techniques moléculaires ont été comparées entre elles et aux caractères morphologiques pour comprendre le degré de congruence.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les graines de niébé ont été collectées à partir de plusieurs régions d'Algérie (tableau 12 ; figure 65) de 2003 à 2005. Les graines ont été conservées *ex situ* (semences séchées et conservées à -20°C et multipliées au champs) à l'Institut Technique des Cultures Maraichères (ITCM Staouéli, Alger). Vingt écotypes de niébé ont été collectés et chaque écotyle a été multiplié deux fois avant l'analyse. Parmi les 20 écotypes, 18 ont été morphologiquement caractérisés (2 n'ont pas fleuri), 19 ont été caractérisés par ISSR et les 20 ont été analysés par RAPD.

Les sites de collecte se divisent géographiquement et climatiquement en 3 régions suivant les données de l'office national de météorologie (Tableau 12) : (i) la Kabylie (Bejaia, Tizi-Ouzou), (ii) la région d'El Kala, (iii) et les oasis sahariens (Adrar, Timimoun, Bechar, El Golea, Djanet).

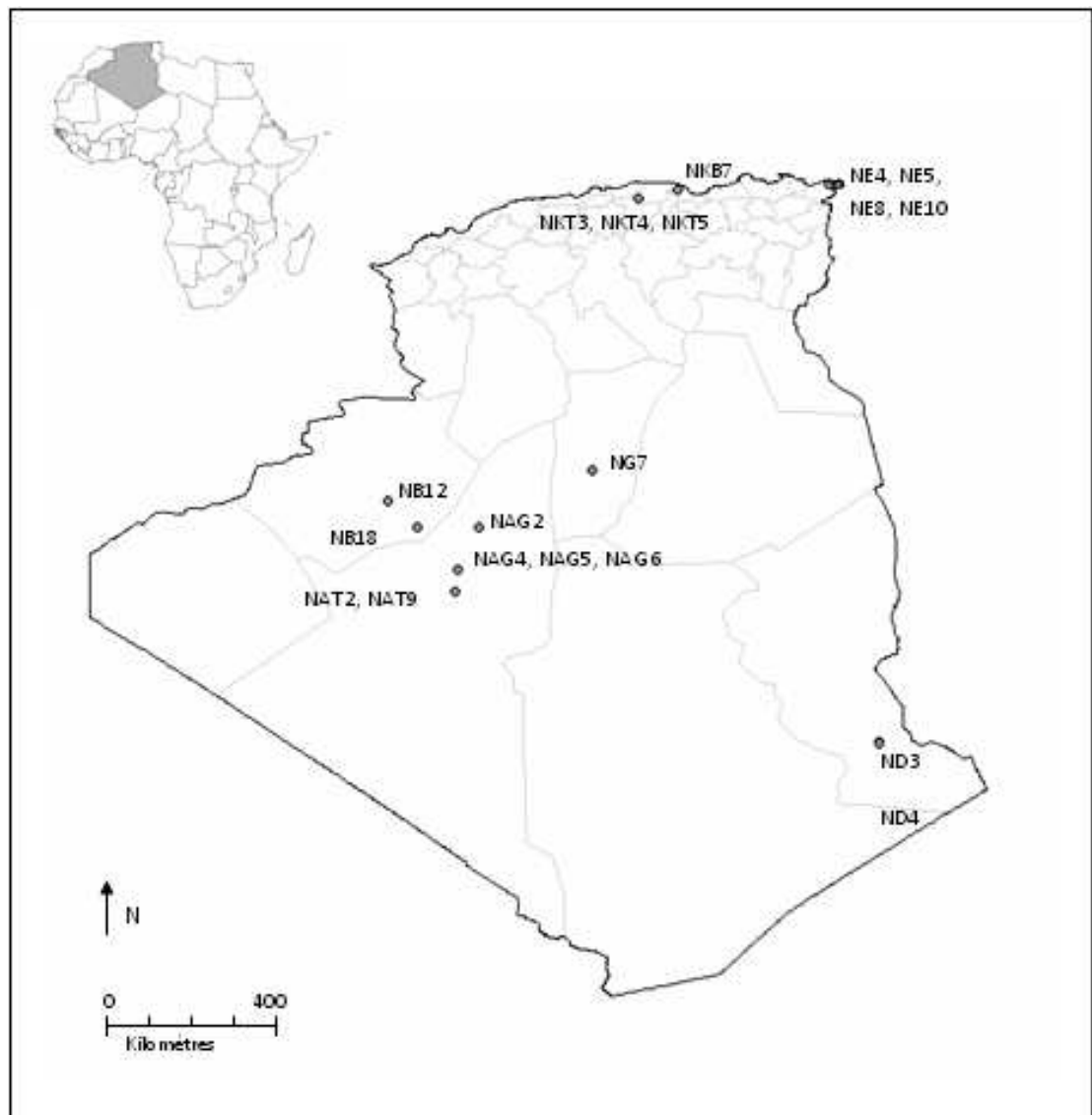


Figure 65 : Carte de l'Algérie représentant les sites d'origine des écotypes de niébé étudiés

Tableau 12 : Localisation géographique des écotypes de niébé cultivés en Algérie

CHAPITRE 4: ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ MORPHOLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE DE QUELQUES ÉCOTYPES ALGÉRIENS DE NIÉBÉ (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)

Écotypes	Origine Géographique
NE5	Tonga ouest, El Kala
NE8	Oubaira, nord-est, El Kala
NE10	Oum El Taboul, El Kala
NE4	Mellah ouest, El Kala
NKT3	Boghni, Tizi-Ouzou, Kabylie
NKT4	Boghni, Tizi-Ouzou, Kabylie
NKT5	Boghni, Tizi-Ouzou, Kabylie
NKB7	Aït Smail, Béjaïa, Kabylie
NAG4	Oujelaine, Tsabit, Adrar
NAG5	Tsabit, Adrar
NAT2	Bouda, Adrar
NAT9	Adgha, Adrar
NAG6	Oujelaine, Tsabit, Adrar
NG7	Hassi-Gara, El Goléa
NAG2	Ouled Said, Timimoun
NB12	El Ouata, Bechar
NB18	Timoudi, Bechar
ND3	Azzelouaz, Djanet
ND4	Azzelouaz, Djanet
ND6	El Mihan, Djanet

2.2. CARACTÉRISATION MORPHOLOGIQUE

L'étude a été réalisée au cours de l'été 2005 au niveau de la station expérimentale de l'ITCMI, à Staouali. Vingt écotypes ont été évalués pour leurs caractères morphologiques et agronomiques dans un essai de caractérisation en plein champ avec une répétition de 15 plantes par écotype.

Les caractéristiques analysées (tableau 13) comprennent des caractères qualitatifs (pigmentation de la gousse, couleur de la fleur, la forme des graines, la couleur de l'œil qui entoure le hile de la graine, la couleur de la graine et la texture des graines) et des caractères quantitatifs des graines et des plantes (date de floraison, longueur de la gousse, nombre de graines par gousse, nombre d'ovules par gousse, longueur des graines et poids de 100 graines) choisis parmi les descripteurs de niébé du International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR, 1983).

Descripteurs
<i>Couleur de la graine</i> : 1 blanche, 2 crème, 3 crème-brun, 4 brune, 5 brune ocre, 6 brune olive, 7 holstein blanche et noire, 8 noire.
<i>Couleur de l'œil</i> : 0 absente, 1 brune, 2 brune large, 3 noire.
<i>Forme de la graine</i> : 1 Réniforme, 2 Ovoïde, 3 Arrondie, 4 Globulaire, 5 Rhomboïde.
<i>Texture</i> : 1 Lisse, 2 Lisse à rugueuse, 3 Rugueuse à ridée.
<i>Couleur de la fleur</i> : 1 blanche, 2 rose, 3 mauve-rose, 4 mauve.
<i>Poids de cent graines (mg)</i> : poids de 100 graines avec un taux d'humidité de 12%.
<i>Longueur de la graine (cm)</i> : mesuré sur 10 graines matures récoltées à partir de 5 plants sélectionnés au hasard.
<i>Pigmentation anthocyanique des gousses</i> : 0 absence, 1 présence.
<i>Longueur de la gousse (cm)</i> : mesurée sur 10 gousses matures récoltées à partir de 5 plants pris au hasard.
<i>Nombre d'ovules par gousse</i> : mesuré sur 10 gousses matures récoltées à partir de 5 plants pris au hasard.
<i>Nombre de graines par gousse</i> : mesuré sur 10 gousses matures récoltées à partir de 5 plants pris au hasard.
<i>Date de floraison (jours)</i> : nombre de jours du semis jusqu'à la floraison

Tableau 13 : Les 12 caractères morphologiques utilisés pour l'analyse du niébé

2.3. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE

2.3.1. Extraction d'ADN

Les graines des écotypes précédemment utilisés pour des analyses morfo-agronomiques ont été semées dans des pots contenant du sol fertile et humide. Les pots sont ensuite placés dans une serre acclimatée convenablement éclairée.

L'extraction de l'ADN a porté sur de jeunes feuilles prélevées à partir de 10 plantes par écotype âgées de 20 jours. De chaque plante, 100 mg de tissus de jeunes feuilles ont été prélevés et congelés dans l'azote liquide pour l'extraction de l'ADN en utilisant le kit DNeasy Plant Mini kit (Qiagen, Allemagne) conformément aux prescriptions du fournisseur.

2.3.2. Estimation de la quantité de l'ADN

Les rendements de l'extraction d'ADN peuvent varier d'un individu à l'autre. Afin de standardiser la quantité d'ADN utilisée pour chaque réaction PCR et éviter de possibles influences sur les résultats obtenus, une quantification de l'ADN présent dans les échantillons a été réalisée.

La méthodologie utilisée à cette fin est l'électrophorèse sur gel d'agarose (0,6 %) coloré au bromure d'éthidium et la visualisation sous UV. Le marqueur de poids moléculaire Smart Ladder (Eurogentec) a servi de référence (figure 66). La quantité d'ADN a été estimée par comparaison visuelle de la luminosité de la bande d'ADN (échantillon) à la luminosité des bandes du marqueur.

Le marqueur de poids moléculaire qui a servi de référence produit 14 bandes dont les poids moléculaires varient entre 200 et 10.000 paires de bases.

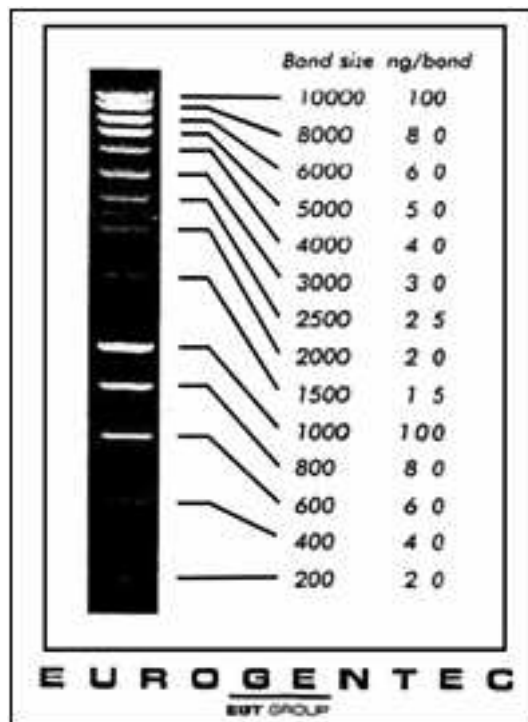


Figure 66 : Marqueur de poids moléculaire (Smart Ladder-Eurogentec) pris comme référence pour la quantification de l'ADN. Il présente, pour chacun des fragments, la taille (en paires de bases - bp) et la quantité d'ADN (en nanogrammes - ng).

La quantification se fait sur des petits gels de 7 cm sur 7 cm, permettant le chargement de 14 échantillons par gel (2 puits étant réservés au marqueur).

Protocole

On a pesé 150 mg d'agarose et on les a dilués dans 25 ml de TAE 1X (annexe 4A). Le mélange est porté à ébullition dans un berlin tout en agitant. La solution est laissée jusqu'à ce qu'elle soit limpide. Après refroidissement jusqu'à environ 55°C, on a ajouté 2 µl de bromure d'éthidium (toxique et mutagène). Le gel est coulé dans le moule en évitant d'y laisser des bulles. Les peignes qui formeront les puits sont placés et on les laisse solidifier pendant 30 min. Une quantité environ 250 ml de TAE 0,5X est versé dans la cuve de migration. Pour chaque échantillon, 6 µl de la solution d'ADN avec 3 µl de bleu de bromophénol sont mélangés. Une quantité de 4,5 µl de la solution préparée est chargée dans chaque puit immergé dans le tampon ainsi que 5 µl de marqueur dans les puits extrêmes. Le gel est mis à migrer à une tension de 40 mA pendant environ 45 min.

La concentration de l'ADN de chaque échantillon a été quantifiée sur gel d'agarose puis diluée à environ 20 ng /µl pour les analyses en RAPD et ISSR. Tous les échantillons d'ADN dilués ont été conservés à -20 ° C jusqu'à leur utilisation.

2.3.3. Analyse par RAPD

2.3.3.1. Mise au point de la technique RAPD

A- Concentration des composants du milieu réactionnel

Pour adapter les conditions d'amplification au niébé, les différents paramètres de la réaction de RAPD ont fait l'objet d'une optimisation. Les concentrations testées pour les constituants de la réaction ont été pour l'ADN extrait des feuilles (en ng) de 15, 20, 40 et 80, pour $MgCl_2$ (en mmol) de 1 et 2,5, pour les amorces (amorces en μmol) de 0,4 et 0,8 pour la *Taq* ADN-polymérase (en unités) de 1, 1,5 et 1,7. Les essais ont été réalisés sur 6 échantillons d'ADN avec les amorces A13 et B11. La variation des composants suivants a été testée dans un volume final de 25 μl .

B- Programme d'amplification

Deux programmes d'amplification trouvés dans la littérature sur le niébé ont été aussi testés. Le premier programme (Ba et al., 2004) comporte une étape de dénaturation initiale (deux minutes à 94 ° C), suivie de 40 cycles d'amplification (une minute à 94 ° C, à une minute à 35 ° C et à deux minutes à 72 ° C), premier cycle de cinq minutes à 72 ° C, et un cycle de 30 minutes à 30 ° C. Le deuxième programme (Menendez et al., 1997) comporte les étapes suivantes : un cycle à 94° C pendant une minute ; 3 cycles de : 1 minute à 94 ° C, 1 minute à 35° C, 2 minutes 72 ° C ; 32 cycles de : 10 secondes à 94 ° C, 30 secondes à 35° C, 1 seconde à 35° C, 1 minute à 72° C ; et un cycle de 5 minutes à 72° C.

C- Sélection des amorces

Afin de sélectionner un nombre suffisant d'amorces permettant d'obtenir suffisamment de marqueurs polymorphes, une première sélection des amorces a été réalisée en retenant celles qui fournissent des produits amplifiés chez les écotypes de niébé. Au total, vingt amorces (Operon Technologies Inc., Alameda, California, USA) ont été testées (tableau 14). Les amorces ont été sélectionnées parmi celles choisies pour les études précédentes sur la diversité génétique du niébé (Menendez *et al.*, 1997; Ba *et al.*, 2004).

Tableau 14 : Liste des séquences des amorces criblées pour la RAPD

Amorces	Séquence (5' → 3')
OPA13	CAGCACCCAC
OPA01	CAGGCCCTTC
OPA04	AATCGGGCTG
OPE18	GGACTGCAGA
OPE19	ACGGCGTATG
OPB11	GTAGACCCGT
OPB05	TGCGCCCTTC
OPB12	CCTTGACGCA
OPA14	TCTGTGCTGG
OPA02	TGCCGAGCTG
OPA09	GGGTAACGCC
OPA16	AGCCAGCGAA
OPA19	CAAACGTCTGG
OPB06	TGCTCTGCCC
OPP02	TCGGCACGCA
OPE01	CCCAAGGTCC
OPE14	TGCGGCTGAG
OPE06	AAGACCCCTC
OPA10	GTGATCGCAG
OPA17	GACCGCTTGT

2.3.3.2. Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose

Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gels d'agarose 1,8% dans un tampon 0,5 x TAE, coloré au bromure d'éthidium et photographiés sous lumière UV. Les poids moléculaires ont été estimés à l'aide du 100bp DNA Ladder Plus (GeneRuler \square , Fermentas, St Leon-Rot, Allemagne). Chaque amplification a été répétée au moins deux fois pour identifier les polymorphismes répétables.

Protocole pour la préparation du gel d'agarose

Dans un erlenmeyer de 500 ml, un mélange de 200 ml de TAE [1X] et 3,6 g d'agarose est chauffé sur agitateur, jusqu'à l'obtention d'une solution limpide.

La solution est laissée à refroidir jusque 53-55°C, 14 μ l de bromure d'éthidium sont ajoutés et la solution d'agarose est coulée délicatement dans la cuve en évitant la formation de bulles d'air qui pourraient gêner la migration. Les peignes sont placés sur le gel, qui est laissé à polymériser pendant 30 min.

Après ce temps, les peignes sont enlevés et le gel est placé dans la cuve. Ce gel contient 40 puits (2 rangées de 20) ce qui permet de charger 34 échantillons, 6 puits étant utilisés pour le marqueur de poids moléculaire.

Une quantité de 1,5 L de TAE [0.5X] est versée dans la cuve qui contient le gel. Quatre μ l de marqueur (Gene Ruler_ 100 pb DNA Ladder Plus) sont chargés dans le premier, le 9^{ème} et le dernier puits de chaque rangée. Le marqueur qui a servi de référence produit 14 bandes dont les poids moléculaires varient de 100 à 3000 paires de bases (Figure 67).

Les puits restants sont chargés avec 12 μ l d'échantillon (mélange de 25 μ l de produit PCR+ 6 μ l de tampon de charge). Les échantillons sont chargés négativement, ils sont donc chargés du côté, de la borne noire (-), pour une migration vers la borne rouge (+). Le couvercle est placé. La migration dure 5 h (amorces 1-8 et 10) ou 7 h (amorces 9 et 11) à

un voltage constant de 90 V. Finalement, le gel est placé sur le transilluminateur ultraviolet (UV) et l'image est enregistrée (format.TIFF) et imprimée.

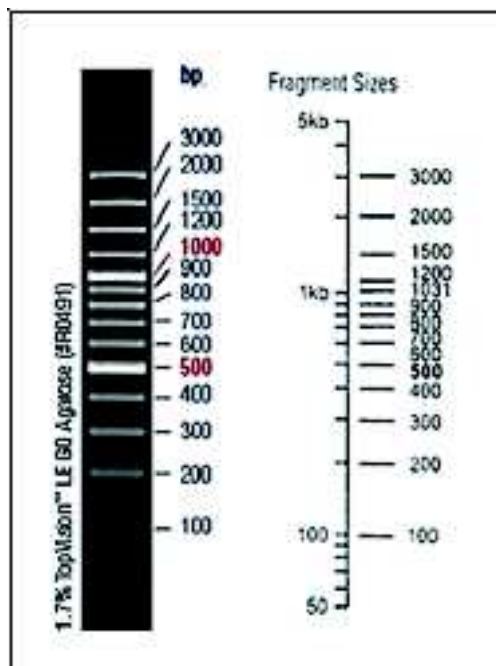


Figure 67 : Marqueur de poids moléculaire (Gene Ruler- 100 pb DNA Ladder Plus), pris comme référence pour la détermination du poids moléculaire des bandes RAPD. Le poids moléculaire est exprimé en paires de base (bp).

2.3.4. Analyses par ISSR

2.3.4.1. Mise au point de la technique ISSR

A- Concentration des composants du milieu réactionnel

L'optimisation de la concentration des composants du milieu réactionnel a été réalisée en tenant compte des interactions entre réactifs lors de la réaction d'amplification ($MgCl_2$; dNTP ; amorce ; Taq polymérase; ADN). Cette étape a été réalisée avec trois amorces (836, 808 et 857) et cinq échantillons d'ADN dans un volume final de 25 μ l , avec les concentrations suivantes :

dNTP : 200 μ M et 400 μ M

Amorce : 0,2 μ M et 0,4 μ M

Taq polymerase: 0,5 U et 1 U

ADN : 20 et 40 ng

Une fois le milieu optimal sélectionné, il a été testé à différentes températures d'hybridation.

B- Détermination de la température optimale d'hybridation des amorces

La température d'hybridation est un des paramètres les plus importants qui doivent être ajustés dans la PCR. Cette étape a pour but de sélectionner un nombre suffisant d'amorces permettant d'obtenir suffisamment de marqueurs polymorphes.

Pour identifier la température d'hybridation optimale de chaque amorce, un gradient de 8 valeurs de températures autour de la valeur de la température d'hybridation théorique (40°C ; 40,8°C ; 42,3°C ; 44,4°C ; 47,5°C ; 49,7°C ; 51,2°C ; 52°C) a été utilisé automatiquement par le programme adéquat de l'appareil PCR, en utilisant un thermocycleur à gradient de température (PTC-200, MJ Research, Waltham, MA, USA).

C- Sélection des amorces

Vingt amorces ISSR ont été choisies en fonction de leurs performances pour distinguer les taxons dans le genre *Vigna* (Ajibade et al., 2000 ; Souframanien et Gopalakrishna, 2004) (tableau 15).

ISSR	Séquence (5' □ 3')
A808	(AG) ₈ C
A811	(G A) ₈ C
A812	(GA) ₈ A
A834	(AG) ₈ YT
A836	(AG) ₈ YA
A841	(GA) ₈ YC
A846	(CA) ₈ RT
A856	(AC) ₈ YA
A857	(AC) ₈ YC
A884	HBH(AG) ₇
A855	(AC) ₈ YT
A2	VHV (GT) ₈
A825	(AC) ₈ C
A848	(CA) ₈ RG
A888	BDB(CA) ₆ AC
A5	(AG) ₈ T
A8	(CCA) ₈ YA
A889	DBD(AC) ₇
A847	(CA) ₈ RC
A880	(GGAGA) ₅

2.3.4.2. Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose

Au terme de la PCR, les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (1,8 % d'agarose dans un tampon de 1 × TBE (annexe 4B)) et coloré au bromure d'éthidium. Après la capture d'images des gels, la taille des bandes a été déterminée en utilisant le 2-Log DNA Ladder (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) (figure 68). Toutes les amplifications ont été répétées au moins deux fois et seules les bandes reproductibles ont été retenues pour les analyses.

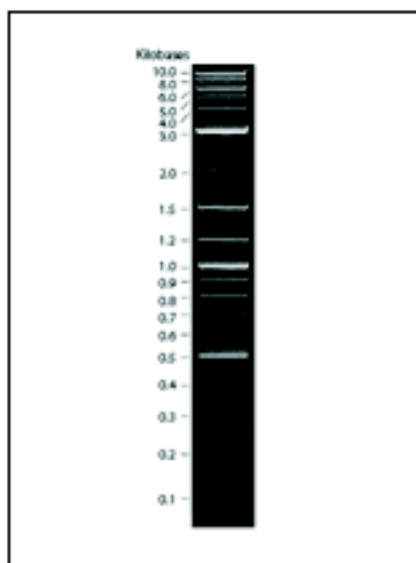


Figure 68 : Marqueur de poids moléculaire (**2-Log DNA Ladder**), pris comme référence pour la détermination du poids moléculaire des bandes ISSR. Le poids moléculaire est exprimé en paires de base (bp).

2.4. Analyse des données

Pour chaque amorce, les images stockées sous format informatique (Tiff) ont été agrandies et imprimées sur papier pour faciliter le choix des bandes. Chaque bande a été traitée comme un locus indépendant avec deux allèles qui représentent la présence et l'absence de la bande.

Les bandes ont été choisies par comparaison visuelle, amorce par amorce et pour chaque écotype, en tenant compte du nombre, de la netteté et de l'intensité des bandes, du polymorphisme révélé, de la distinction et de la reproductibilité.

Les bandes reproductibles en RAPD et ISSR ont été marquées comme présente (1) ou absente (0), et chaque profil a été traité de manière indépendante. Pour chaque amorce, le nombre de profils différents et la fréquence des bandes polymorphes ont été calculés. La diversité génétique (hétérozygotie) (Nei, 1973) a été calculée pour chaque amorce en prenant chaque profil différent comme un allèle ($H = 1 - \sum p_i^2$ où P_i est la fréquence du $i^{\text{ème}}$ allèle). La similitude génétique et l'analyse en grappes ont été réalisées en calculant l'indice de Jaccard et la matrice de distance génétique résultante (logiciel Treecon, Van de Peer et De Wachter, 1994) permettant de générer des dendrogrammes (UPGMA) (unweighted pairgroup method) à l'aide du logiciel Statistica 7.0 (StatSoft, Groningen, Pays-Bas). Pour les caractères morphologiques quantitatifs, une analyse de variance a été effectuée, les groupes homogènes (Newman et Keuls) ont été déterminés et les CV intra-écotypes ont été calculés à l'aide de Statistica 7.0. Les matrices de distance pour les caractéristiques morphologiques basées sur la distance de Gower entre des paires d'écotypes locaux ont été calculées à l'aide de SAS 9.1 (SAS Institute Inc, Cary, USA), et des dendrogrammes ont été construits à partir de ces matrices avec STATISTICA 7.0 en utilisant l'algorithme de regroupement UPGMA. L'analyse de la structure et de la diversité génétique des populations a été réalisée par l'approche AMOVA à l'aide du programme Arlequin ver. 2.000 (Schneider et al., 2000). Cette méthode analytique basée sur le principe d'une analyse de la variance (ANOVA) permet de déterminer la composante de la variation moléculaire à différents

niveaux hiérarchiques (individus, écotypes et groupes). L'AMOVA à trois niveaux a permis de quantifier le niveau de différenciation génétique intra et inter-écotypes et inter et intra régions géographiques.

Les corrélations entre les matrices de distance moléculaire, morphologique et géographique, et la corrélation entre chaque matrice de similarité (RAPD et ISSR) ont été réalisées par le test de Mantel à l'aide du logiciel Passage 1.1. (Mantel, 1967; Rosenberg, 2001). Les données des coordonnées géographiques (latitude et longitude) des sites de collecte des écotypes ont été utilisées pour l'élaboration d'une carte de distribution géographique des échantillons étudiés, grâce au logiciel DIVA-GIS 2.4 (Hijmans et al., 2002).

L'analyse en composantes principales (ACP) a été également utilisée pour traiter les données binaires issues de l'analyse moléculaire. C'est une technique descriptive permettant d'étudier les relations qui existent entre des variables quantitatives, sans tenir compte, à priori, d'une quelconque structure, ni des variables ni des individus (Palm, 1998). L'objet de cette méthode est de produire une représentation géométrique des mesures de similarité entre unités permettant de mieux comprendre de manière concrète la notion de diversité. Cette méthode confirme ou infirme les résultats de l'analyse en dendrogramme. L'ACP a été réalisée grâce au logiciel SAS (SAS 8 for windows, 2001).

3. RÉSULTATS

3.1. CARACTÉRISATION MORPHOLOGIQUE

La comparaison morphologique a été réalisée entre les écotypes collectés en Algérie. Deux écotypes, ND3 de Djanet caractérisé par de grandes graines blanches et NAT9 d'Adrar caractérisé par de petites graines de couleur crème et œil blanche, originaires du Sahara, n'ont pas fleuri dans les conditions climatiques du site de l'essai (Staoueli) et n'ont pas pu être utilisées pour la caractérisation morphologique.

Les résultats des analyses d'ANOVA sont résumés au tableau 16 et indiquent des différences significatives entre les écotypes pour l'ensemble des caractères quantitatifs ($p < 0,001$). Aucune variation intra-écotype n'a été observée pour les caractères qualitatifs. Pour chacun des caractères quantitatifs étudiés, nous avons procédé à une comparaison des moyennes des écotypes par l'analyse de la variance (ANOVA). L'analyse des CV pour les caractères morphologiques quantitatifs a révélé que l'écotype NAG2 était significativement plus variable pour tous les caractères par rapport aux autres écotypes. En se basant sur la comparaison de Newman et Keuls, les groupes homogènes suivants ont pu être mis en évidence :

- les écotypes NE5, NE8 et NE4 caractérisés par les dates de floraison les plus précoces alors que les écotypes ND4 et NAG2 sont les plus tardifs.
- les écotypes NKB7 et ND6, qui proviennent respectivement de Kabylie et de Djanet, caractérisés par les plus longues gousses.
- les écotypes ND4, NAG2 et NG7, qui possèdent le plus grand nombre d'ovules par gousse et l'écotype ND6 qui est caractérisé par la plus grande taille des graines (1,04 cm en moyenne).

Etude de la diversité génétique de quelques écotypes locaux de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Cultivés en Algérie

La comparaison des données qualitatives et quantitatives entre les écotypes, en utilisant la matrice de distance de Gower, a permis la construction d'un dendrogramme (Figure 69). L'analyse du dendrogramme a regroupé les écotypes étudiés en 6 groupes :

- Le groupe I, comporte les écotypes NE5 et NKT3 caractérisés par des graines réniformes de grande taille (0,94 et 0,90 cm respectivement) qui proviennent tous les deux du nord de l'Algérie ;
- Le groupe II, comprend les écotypes NE4 et NAG5 (caractérisés par des graines de couleur crème, forme globulaire avec présence d'un œil noir autour du hile de la graine); cependant malgré leur similitude pour la couleur, la forme et l'aspect des graines, ils diffèrent significativement par leurs caractères quantitatifs (tableau 16) ;
- Le groupe III, comprend les écotypes NE8 et NKT4 caractérisés par les mêmes traits qualitatifs (couleur de la graine et de l'oeil, texture de la graine, couleur de la fleur et absence de pigmentation anthocyanique sur les gousses) ; l'analyse de la variance n'a pas montré de différences significatives entre ces écotypes pour les caractères quantitatifs ($p > 0.05$) (tableau 16);

Écotype	Caractères qualitatifs						Caractères quantitatifs ¹											
	CG	CO	FG	TG	CF	FAG	DF		FCG		LG		LGS		NG/G		NO/G	
							Moy±ET	CV	Moy±ET	CV	Moy±ET	CV	Moy±ET	CV	Moy±ET	CV	Moy±ET	CV
NE5	Crème	Brune	Réniforme	Lisse rugueux	Blanche	0	47.60±0.55 ¹	1	19.09±0.76 ¹	4	0.94±0.03 ¹	3	17.12±0.77 ¹	4	11.56±1.10 ¹¹	10	11.92±0.91 ¹¹	8
NE8	Crème	Brune-jaune	Réniforme	Lisse	Rose	0	47.20±0.84 ¹	2	13.37±0.77 ¹	6	0.74±0.04 ¹¹	6	13.38±0.63 ¹¹	5	12.50±1.12 ¹¹	9	12.24±0.36 ¹¹	3
NE10	Beige-brun	Absente	Ovoïde	Lisse	Rose	0	51.40±1.95 ¹¹	4	10.93±1.45 ¹¹	13	0.73±0.01 ¹¹	2	12.28±1.46 ¹¹	12	11.24±1.26 ¹¹	11	11.84±1.04 ¹¹	9
NE4	Crème	Noire	Globulaire	Lisse rugueux	Blanche	1	49.20±1.92 ¹	4	11.68±1.74 ¹¹	15	0.73±0.03 ¹¹	4	13.82±0.67 ¹¹	5	12.40±1.95 ¹¹	16	12.84±1.68 ¹¹	13
NKT3	Crème	Noire	Réniforme	Rugueux àride	Blanche	1	48.60±1.14 ¹	2	18.58±1.52 ¹	8	0.92±0.04 ¹	4	15.16±0.77 ¹	5	12.36±0.33 ¹¹	3	12.68±0.11 ¹¹	1
NKT4	Crème	Brune large	Ovoïde	Lisse rugueux	Rose	0	49±0.71 ¹	1	12.07±1.21 ¹¹	10	0.77±0.05 ¹¹	6	14.58±0.96 ¹¹	7	13.04±0.54 ¹¹	4	13.20±0.55 ¹¹	4
NKT5	Noir	Absente	Ovoïde	Lisse	mauve-Rose	1	52±2.12 ¹¹	4	10.30±1.25 ¹¹	12	0.79±0.03 ¹¹	4	17.84±1.82 ¹¹	10	13.12±0.67 ¹¹	5	13.16±0.52 ¹¹	4
NKB7	Holstein	Absente	Réniforme	Lisse	Blanche	1	55.80±1.48 ¹¹	3	9.77±1.04 ¹¹	11	0.87±0.03 ¹¹	3	20.64±1.44 ¹¹	7	12.92±1.17 ¹¹	9	13.08±1.10 ¹¹	8
NAG4	Noire	Absente	Ovoïde	Lisse	mauve-Rose	1	75.60±1.52 ¹¹	2	8.51±0.99 ¹¹	12	0.71±0.03 ¹¹	4	10.52±0.54 ¹¹	5	10.04±0.71 ¹¹	7	10.28±0.70 ¹¹	7
NAG5	Crème	Noire	Globulaire	Lisse rugueux	Blanche	1	60.00±3.16 ¹¹	5	9.02±1.13 ¹¹	3	0.69±0.07 ¹¹	9	9.96±0.37 ¹¹	4	8.58±0.70 ¹¹	8	9.38±0.78 ¹¹	8
NAT2	Brune	Absente	Ovoïde	Lisse	mauve	0	83.60±4.04 ¹¹	5	7.63±1.15 ¹¹	15	0.65±0.04 ¹¹	6	10.20±0.55 ¹¹	5	10.28±0.52 ¹¹	5	10.76±0.65 ¹¹	5
NAG6	Brune	Absente	Ovoïde	Lisse	mauve	0	48.80±0.84 ¹¹	2	7.43±1.48 ¹¹	20	0.66±0.03 ¹¹	4	10.82±0.75 ¹¹	7	10.36±1.16 ¹¹	11	10.88±0.95 ¹¹	9
NG7	Brune	Absente	Rhomboidale	Lisse	mauve	0	58.20±0.84 ¹¹	1	11.95±1.03 ¹¹	9	0.79±0.03 ¹¹	4	15.60±0.64 ¹¹	4	13.20±1.32 ¹¹	10	13.60±1.05 ¹¹	8
NAG2	Brune	Absente	Rhomboidale	Lisse	mauve	0	69.20±40.78 ¹¹	59	7.06±4.61 ¹¹	65	0.55±0.33 ¹¹	60	8.31±5.74 ¹¹	69	8.14±5.07 ¹¹	62	8.54±5.35 ¹¹	63
NB12	Brune	Absente	Rhomboidale	Lisse	mauve	0	50.40±1.67 ¹¹	3	9.05±2.19 ¹¹	24	0.65±0.06 ¹¹	9	11.50±1.09 ¹¹	10	11.28±0.94 ¹¹	8	11.84±0.76 ¹¹	7
NB18	Brune	Absente	Rhomboidale	Lisse	mauve	0	52.60±2.41 ¹¹	5	9.58±2.77 ¹¹	29	0.62±0.03 ¹¹	4	11.64±0.59 ¹¹	5	11.05±0.87 ¹¹	8	11.44±0.70 ¹¹	6
ND4	Brune-ocre	Absente	Rhomboidale	Lisse	mauve	0	88.40±2.61 ¹¹	3	9.58±2.77 ¹¹	29	0.62±0.03 ¹¹	4	11.64±0.59 ¹¹	5	11.05±0.87 ¹¹	8	11.44±0.70 ¹¹	6
ND6	Brune-olive	Absente	Réniforme	Lisse	mauve	0	63.80±6.50 ¹¹	10	16.75±4.21 ¹¹	25	1.04±0.02 ¹¹	2	24.82±1.56 ¹¹	6	12.20±0.97 ¹¹	8	12.67±1.14 ¹¹	9
NAT9	Crème	Noire	Rhomboidale	Rugueux àride	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB3*	Blanche	Absente	Réniforme	Lisse	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 16 : Caractères morphologiques des écotypes de niébé cultivés en Algérie

†: Les caractères quantitatifs sont présentés par la moyenne de 5 individus par population. * : NAT9 et ND3 n'ont pas fleuri. et n'ont pas été utilisés dans l'analyse statistique. ; DF: date de floraison ; PCG : Poids de 100 graines ; LG : Longueur de la graine ; LGS : Longueur de la gousse ; NG/G : Nombre de graines par gousse ; NO/G : Nombre d'ovules par gousse ; CG : Couleur de la graine; CO : Couleur de l'œil ; FG : Forme de la graine ; TG : Texture de la graine ; CF : Couleur de la fleur ; PAG : Pigmentation anthocyanique sur gousse ; 0 : absent ; 1: présent. , a, b, c, d, e, f, g, h, i, j : groupes homogènes suivant le test de Newman and Keuls. EC : Ecart type ; CV : coefficient de variation.(%)

- Le groupe IV, comprend les écotypes NE10, NAT2, NAG6, NAG2, NB12, NB18, NG7 et ND4 caractérisés par la même couleur de la graine (brun);
- Le groupe V, comprend les écotypes NKT5 et NAG4 (caractérisés par la couleur noire des graines) originaires de régions différentes (la Kabylie pour NKT5 et le Sahara pour NAG4) ; cependant, malgré la similitude de la couleur de la graine, ils diffèrent significativement par leurs caractères quantitatifs (tableau 16) et
- Le groupe VI, qui comprend les écotypes NKB7 et ND6 caractérisés par la plus grande taille des gousses.

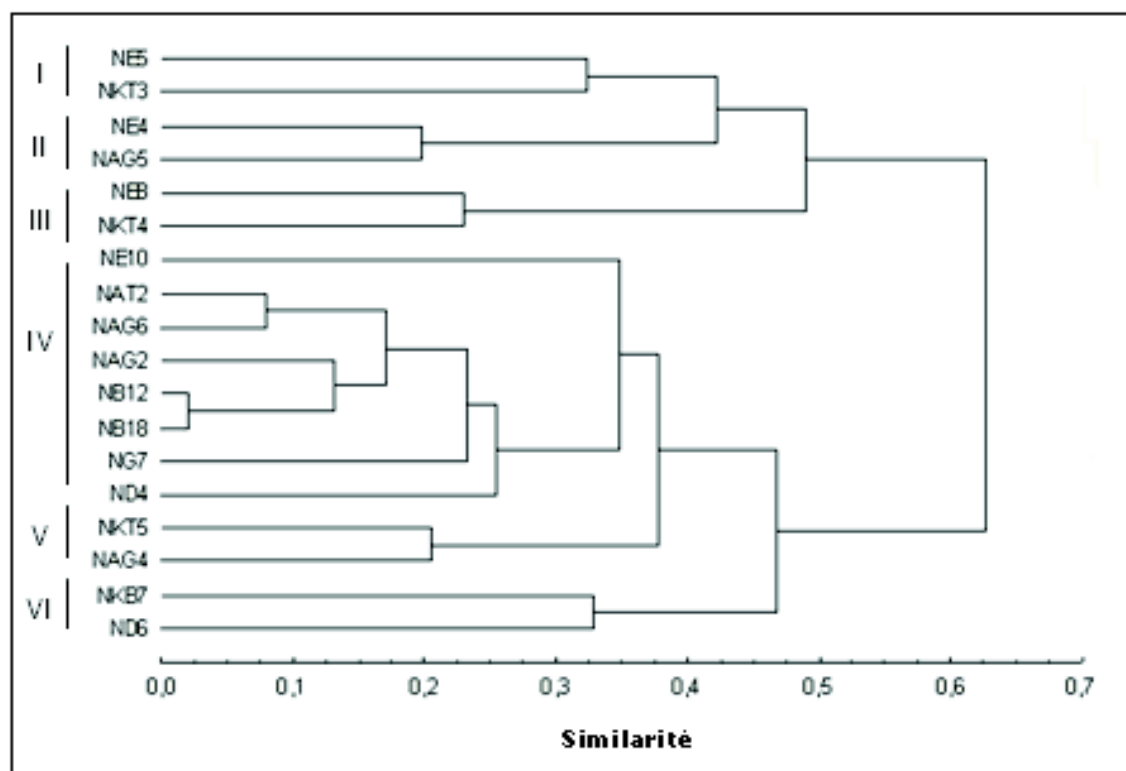


Figure 69 : Dendrogramme basé sur les caractères morphologiques et la distance de Gower

3.2. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE

3.2.1. Analyse par RAPD

3.2.1.1. Mise au point de la technique RAPD

A- Concentration des composants du milieu réactionnel

Suite aux analyses des différents paramètres de la réaction RAPD, nous avons établi les conditions optimales de l'amplification aléatoire de l'ADN extrait des feuilles du niébé. Ces conditions ont été définies sur la base du nombre de bandes détectées (paramètre principalement influencé par la quantité d'ADN et de leur répétabilité partant d'une même préparation d'ADN).

Deux concentrations en Taq ont été testées. Dans un premier temps, une quantité de 1U a été choisie. Cette quantité était insuffisante et a engendré des amplifications aléatoires. Nous avons donc augmenté la concentration en Taq (1,5 U et 1,7 U). La concentration de 1,7 U a fourni des amplifications plus interprétables qu'avec 1,5 U.

Les rendements d'amplification d'une PCR varient aussi avec la quantité d'ADN utilisée. Pour déterminer une concentration optimale d'ADN, trois concentrations d'ADN ont été testées : 15 ng, 20 ng et 80 ng. Les amplifications les plus correctes ont été obtenues avec des quantités d'ADN de 80 ng. Nous avons aussi opté pour une concentration en $MgCl_2$ de 1 mM et une concentration en amorce de 0,4 μM pour une meilleure amplification de l'ADN analysé.

Après l'optimisation du milieu réactionnel, le protocole suivant a été retenu. Les amplifications ont été réalisées dans un volume de 25 μl contenant du tampon 1X (20 mM Tris-HCl 10 mM KCl, 10 mM $(NH_4)_2SO_4$, 2mM $MgSO_4$ et 0,1% de Triton X-100 (pH 8,8 à 25 °C), 1 mM $MgCl_2$, 200 μM dNTP, 1,7 U Taq ADN polymérase (New England Laboratoires Bio, Ipswich, MA, USA), 400 nM d'amorces et 80 ng de matrice ADN.

B- Programme d'amplification

Des deux programmes testés, le programme de Ba et al. (2004) est celui qui a produit une meilleure amplification de l'ADN de nos échantillons. Toutes les amorces ont été sélectionnées et amplifiées sur ce cycle. Les réactions PCR ont été effectuées dans un thermocycleur programmés pour une étape de dénaturation initiale (deux minutes à 94 °C), suivie de 40 cycles d'amplification (une minute à 94 °C, à une minute à 35 °C et à deux minutes à 72 °C), premier cycle de cinq minutes à 72 °C, et un cycle de 30 minutes à 30 °C (Ba et al., 2004).

C- Sélection des amorces

Un ensemble de 20 amorces a été testé sur quelques échantillons. Cette sélection a permis de retenir 11 amorces polymorphes ayant généré un total de 77 bandes avec 45 bandes polymorphes et 58 profils d'amplification différents (tableau 17).

Après avoir mis au point les différents paramètres de la PCR et sélectionné les amorces, l'ensemble des échantillons a été amplifié avec les 11 amorces choisies.

Tableau 17 : Les 11 amorces polymorphes sélectionnées pour la RAPD

CHAPITRE 4: ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ MORPHOLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE DE QUELQUES ÉCOTYPES ALGÉRIENS DE NIÉBÉ (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)

RAPD	Nombre de bandes	Nombre de bandes polymorphiques	Nombre de profils	Hétérozygotie
OPA13	14	4	9	0.73
OPA01	7	4	6	0.7
OPA04	6	2	3	0.46
OPE18	7	6	7	0.46
OPE19	5	4	4	0.62
OPB11	8	7	6	0.44
OPB05	8	2	3	0.28
OPB12	7	6	11	0.88
OPA14	5	3	3	0.45
OPA02	6	4	3	0.41
OPP02	4	3	3	0.19
Total	77	45	58	/

3.2.1.2. Caractérisation par RAPD

Quand la RAPD a été appliquée aux 20 écotypes, 77 bandes différentes ont été amplifiées à partir des 11 amorces sélectionnées avec une fréquence moyenne de 7 bandes par amorce. La taille des bandes variait de 311 à 2064 pb. Le polymorphisme moyen pour toutes les bandes était de 58,44 % (45/77). L'hétérozygotie variait de 0,19 à 0,88 (tableau 17). L'amorce OPB12 est considérée comme la plus informative en termes de polymorphisme révélé avec la séparation de 11 profils différents. Les figures 70 et 71 illustrent le typage par RAPD.

Aucune différence n'a été observée entre les individus d'un même écotype avec l'analyse RAPD.

Par conséquent, les analyses ont été réalisées au niveau de l'écotype en utilisant les matrices de distance. L'analyse par AMOVA a indiqué que la part de la variation génétique totale attribuée à la différenciation située à l'intérieur des écotypes n'est que de 0,76 % (tableau 18). Cette valeur est évidemment non significative. Il n'existe donc pas globalement de différences génétiques intra écotypes. Le degré de variation génétique entre les écotypes à l'intérieur d'une région est de 30,63 %, cette valeur est significative. Le maximum de la diversité est situé entre les régions avec 68,61 % de variation génétique. L'indice de fixation F_{ST} atteint la valeur de 0,992. La probabilité P affiche une valeur nulle qui permet de rejeter l'hypothèse nulle d'égalité entre les groupes de manière très hautement significative.

Tableau 18 : AMOVA à 3 niveaux portant sur les variabilités écotypes et régions analysées par RAPD

Source de la variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Variance attendue	Pourcentage de variation (%)
Entre régions	4	200.387	3.8585 V_a	68.61
Entre écotypes à l'intérieur de chaque groupe	14	264.614	1.7229 V_b	30.63 %
A l'intérieur des écotypes	74	3.150	0.0425 V_c	0.76%
Total	92	468.151	5.6241	

$F_{st} : 0.99243$ P (valeur aléatoire \geq valeur observée) = 0,00 \pm 0,00

La matrice de distance a été obtenue en considérant la distance (similarité) de Jaccard à partir de la matrice binaire (présence/absence de chaque bande). Ensuite, un dendrogramme a été généré en utilisant la méthode de regroupement UPGMA (figure 72). Les distances génétiques entre les 20 écotypes étudiés sont de 0,03 à 0,34 pour la RAPD.

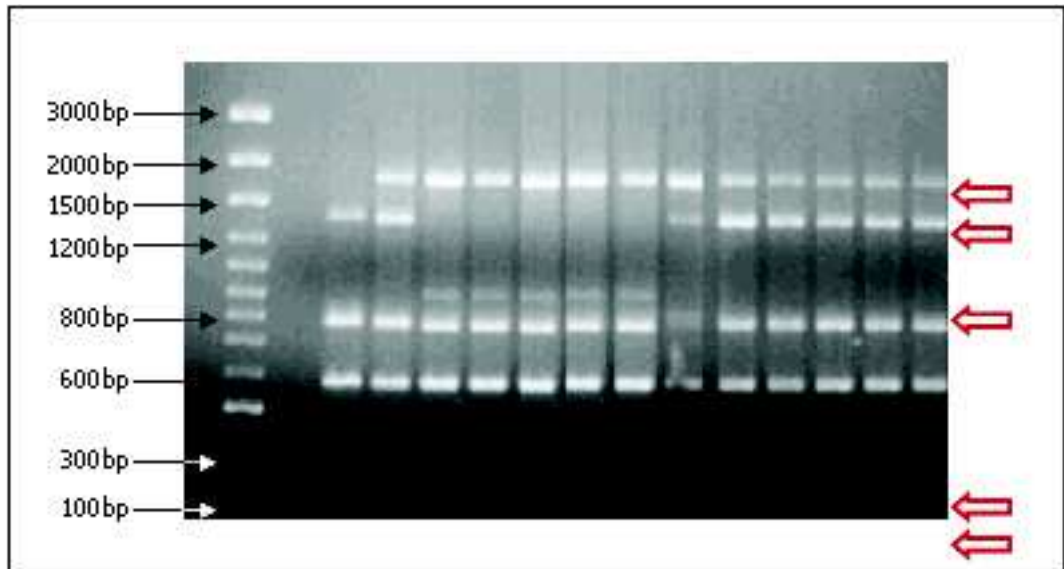


Figure 70 : Profils RAPD de 13 écotypes de niébé obtenus avec l'amorce OPB11. (de gauche à droite : marqueur moléculaire de taille 100 pb DNA Ladder Plus , NG7, NE11, NAT2, NAG6, NAG2, NB12, NB18, NE5, NE4, NKT3, NKT4, NE8, NKT7. Les flèches indiquent les bandes polymorphes.

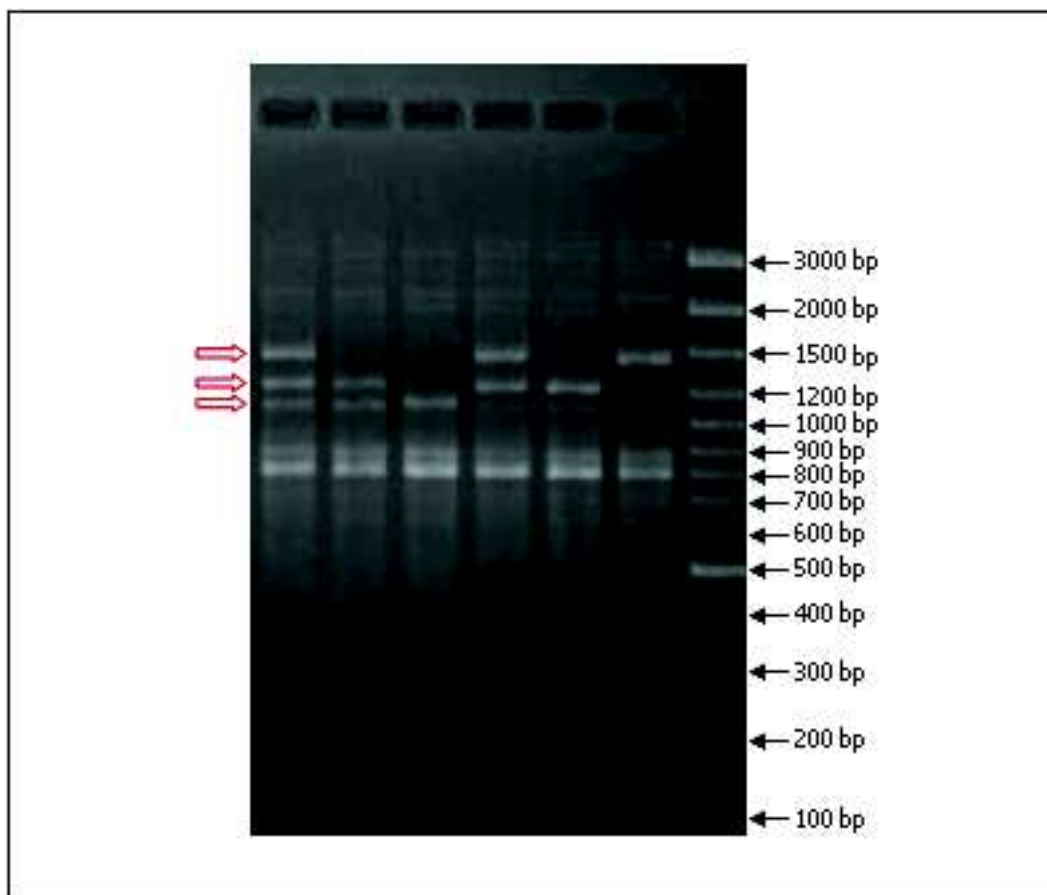


Figure 71 : Profils d'amplification de l'ADN de six écotypes de niébé par RAPD obtenus avec l'amorce OPB12 comme amorce de PCR (de droite à gauche : marqueur de taille 100 pb DNA Ladder Plus , NE5, NE4, NKT4, NKB7, NAG4, NB18, ND4. Les flèches indiquent les bandes polymorphes.

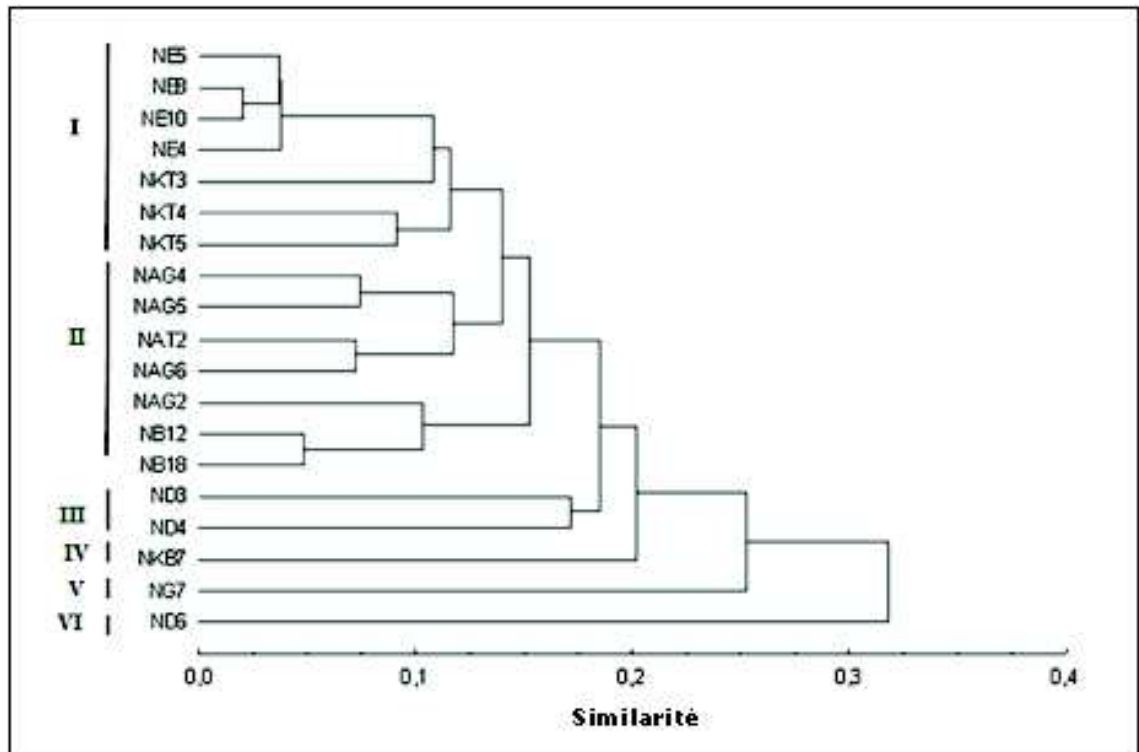


Figure 72 : Dendrogramme généré par analyse UPGMA montrant les relations entre les accessions algériennes de niébé en utilisant les marqueurs moléculaires RAPD sur la base de la matrice de similarité de Jaccard.

Pour le dendrogramme RAPD (figure 72), nous avons observé 6 groupes :

- Le groupe I avec les écotypes des régions du nord de l'Algérie d'El Kala (NE5, NE8, NE10, NE4) et de Tizi-Ouzou (NKT3, NKT4, NKT5);
- Le groupe II avec les écotypes des régions centrales d'Adrar (NAG4, NAG5, NAG6, NAG2), de Bechar (NB12, NB18) et de Timimoun (NAT2);
- Les groupes III avec les écotypes de Djanet (ND3 and ND4);
- Le groupe IV incluant un écotype de Bejaia (NKB7);
- Le groupe V incluant un écotype d'El Golea (NG7);
- Le groupe VI incluant un seul écotype, ND6, qui semble être différent des autres écotypes et qui constitue un groupe séparé ce qui est en accord avec les données morphologiques, puisque ND6 montre une couleur différente de graine (brun-olive) et les gousses les plus longues.

Une analyse en composantes principales (ACP) a permis d'obtenir une vue graphique et la structuration des écotypes de niébé caractérisés par RAPD (figure 68). Les deux premiers axes de l'ACP expliquent seulement 21,06 % de la variabilité exprimée. La structure de la diversité génétique du niébé analysée par l'ACP a révélé une distribution uniforme de certaines accessions sur le graphique formé par les deux premières composantes (figure 73), expliquant respectivement 12,13 % et 8,93 % de la variation totale. L'ACP montre que la majorité des variétés impliquées ne se distinguent pas significativement les unes des autres et forment une agglomération qui se définit par la partie négative de l'axe 1. Cependant les écotypes ND6, NG7, ND3, ND4 et NAG2 semblent se détacher de l'ensemble des écotypes, particulièrement par rapport à l'axe 1 qui absorbe le maximum de variabilité.

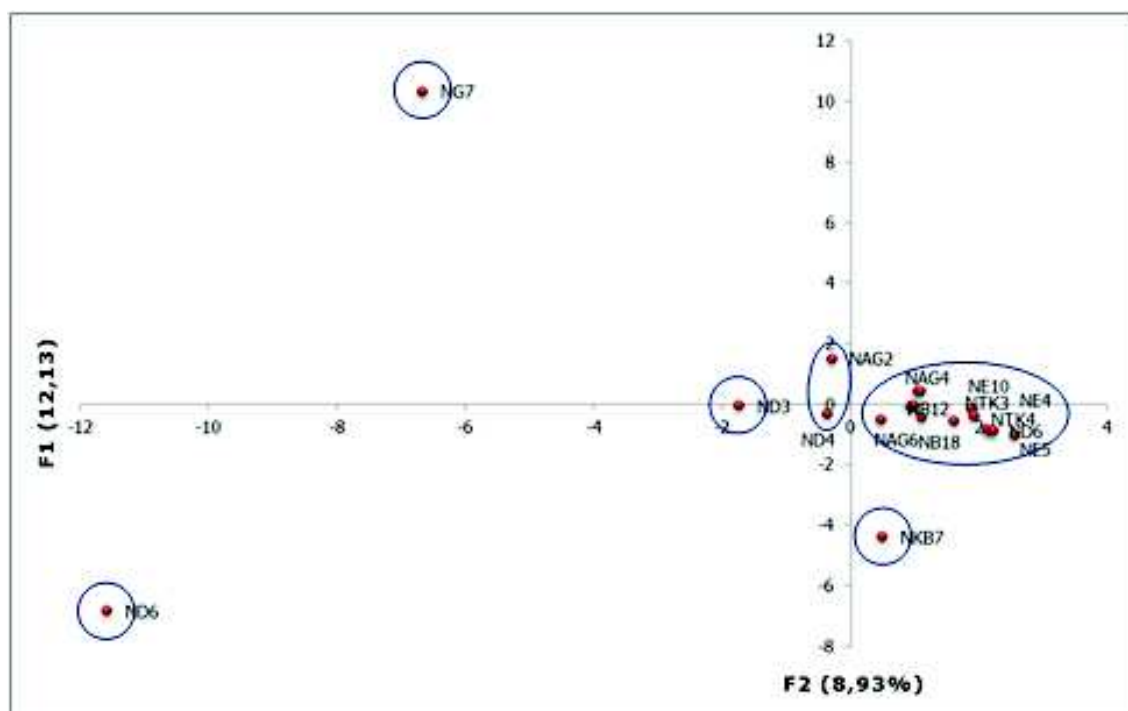


Figure 73 : Analyse en Composantes Principales de 20 écotypes locaux de niébé en considérant la distance génétique analysée par RAPD.

3.2.2. Analyse par ISSR

3.2.2.1. Mise au point de la technique ISSR

A- Concentration des composants du milieu réactionnel

L'optimisation du milieu réactionnel est l'étape la plus importante lors d'amplification ISSR. En plus de la sélection des amorces, une bonne amplification dépend de plusieurs facteurs :

la concentration en ADN, la concentration des composants du milieu réactionnel et la température d'hybridation de l'amorce.

La concentration de 40 ng d'ADN/réaction a été retenue pour la suite de notre travail comme la concentration idéale pour les réactions ISSR-PCR du niébé. Tandis que pour Ajibade *et al.*, (2000) une concentration d'ADN de 15 ng était suffisante pour l'amplification du niébé par ISSR, cela est dû à la différence de la qualité de l'ADN entre les deux essais.

La concentration en amorce joue également un rôle important, des concentrations élevées pouvant mener à des mésappariements et à la synthèse de produits non-spécifiques. De faibles concentrations peuvent à l'inverse réduire l'efficacité de la réaction d'amplification (Blanchard *et al.*, 1993). La concentration optimale déterminée pour la présente étude est de 0,2 μ M. De même, une concentration de 0,5 U en Taq Polymérase a été suffisante pour l'amplification de l'ADN du niébé. Ces premières étapes de mise au point du protocole d'amplification ISSR ont permis le développement d'un milieu réactionnel adéquat pour l'amplification de l'ADN du niébé à l'aide d'amorces ISSR. La PCR a été réalisée dans un volume de 25 μ l contenant 40 ng d'ADN matrice, 0,5 U Taq ADN polymérase (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA), 400 μ M dNTPs, 0,2 μ M d'amorces

et du tampon 1 × contenant 20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 2mM MgSO₄ et 0,1% de Triton X-100 (pH 8,8 à 25°C).

B- Température d'hybridation des amorces

Un autre facteur qui est connu pour influencer très fortement la qualité des résultats d'amplification par PCR est la température d'hybridation des amorces. La température d'hybridation a été considérée comme le paramètre le plus déterminant dans la mise au point des conditions PCR. Elle dépend directement de la longueur, de la composition et de la nature de l'amorce (Vernon *et al.*, 2001). En premier lieu, la température d'hybridation 36 °C utilisée par Ajibabde *et al.*, (2006) pour l'amplification de l'ADN du niébé par ISSR a été testée. Dans notre cas, cette température n'a pas permis l'amplification de l'ADN (apparition de smear) . Pour cela, la température d'hybridation a été optimisée pour chaque amorce en étudiant 8 gradients de températures différents. La température d'hybridation de 50°C a été choisie pour toutes les amorces testées en fonction des profils préliminaires sur gel d'agarose et les conditions d'amplification retenues étaient les suivantes : un cycle initial de dénaturation de cinq minutes à 94 °C, suivi par 35 cycles d'amplification (30 sec à 94 °C, 1 minute à 50 °C, et 1 minute à 72 °C) et une étape d'extension finale de huit minutes à 72 °C.

C- Sélection des amorces

Sur les 20 amorces choisies, 12 ont été retenues pour une analyse plus poussée, fondée sur la clarté, l'identification et la reproductibilité des profils de bandes (tableau 19). Les amorces présentant des bandes polymorphes, claires et intenses ont été sélectionnées. Par contre, les amorces présentant peu de bandes, d'intensité faible ou peu discernables les unes des autres ont été éliminées. Après avoir constaté la reproductibilité des amplifications, le protocole développé a été appliqué en routine à l'ensemble de la collection constituée de 19 écotypes.

Tableau 19 : Les 12 amorces polymorphes sélectionnées pour l'ISSR

ISSR	Nombre de bandes	Nombre de bandes polymorphes	Nombre de profils	Hétérozygotie
A808	11	8	17	0.94
A811	8	7	9	0.82
A812	9	8	8	0.81
A834	10	7	11	0.87
A836	6	3	4	0.49
A841	10	5	9	0.75
A846	5	3	4	0.67
A856	10	6	9	0.75
A857	8	7	9	0.82
A884	9	4	4	0.46
A855	8	2	3	0.19
A2	10	5	4	0.47
Total	104	65	91	/

3.2.2.2. Caractérisation par ISSR

Les vingt amorces sélectionnées ont été testées sur l'ensemble des écotypes étudiés. Ceci a généré un total de 104 bandes s'étalant de 300 à 2300 pb avec 8,66 bandes en moyenne par amorce. Parmi celles-ci, 65 (62,5 %) étaient polymorphe. L'hétérozygotie de ces marqueurs variait de 0,19 à 0,94 (tableau 19). Si on observe les séquences répétées

CHAPITRE 4: ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ MORPHOLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE DE QUELQUES ÉCOTYPES ALGÉRIENS DE NIÉBÉ (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)

dans les amorces ISSR, le pourcentage de polymorphisme était de 74,7 %, 61,11 %, 57,69 % et 25 % respectivement pour GA, AG, AC et CA. Les figures 74 et 75 illustrent le typage par ISSR.

Les résultats de l'AMOVA à trois niveaux n'ont montré aucune différence significative entre les individus à l'intérieur d'un même écotipe par analyse ISSR avec un pourcentage de variation de 0 %. Par contre, la variation entre les écotypes de régions différentes était de 71,50 % alors que la variation entre les écotypes au sein des mêmes régions était seulement de 28,50 % pour l'ISSR (tableau 20).

Tableau 20 : AMOVA à 3 niveaux portant sur les variabilités écotypes et régions analysées par ISSR

Source de la variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Variance attendue	Pourcentage de variation (%)
Entre régions	5	340.057	6.37343 Va	71.50
Entre écotypes à l'intérieur de chaque région	14	432.152	2.54076 Vb	28.50
A l'intérieur des écotypes	76	0.000	0.00000 Vc	0.00
Total	95	772.208	8.91418	/

Fst : 1,000 $P(\text{valeur aléatoire} \geq \text{valeur observée}) = 0,00 \pm 0,00$

Les distances génétiques entre les écotypes ont varié de 0,01 à 0,37 pour l'ISSR. Pour l'ISSR comme pour la RAPD (figure 76), les écotypes NKB7, NG7 et ND6 ont été classifiés séparément indiquant que ces écotypes sont génétiquement séparés des autres. Les autres écotypes peuvent être divisés en 5 groupes:

- Le groupe I (écotypes NE5, NE8, NE10 et NE4) incluant les écotypes d'El Kala (nord-est) ;
- Le groupe II incluant les écotypes de Tizi-Ouzou (NKT3, NKT4 et NKT5);
- Le groupe III incluant les écotypes d'Adrar (NAG4, NAG5, NAT2 et NAG6) sauf l'écotype NAT9 qui fait partie du groupe V;
- Le groupe IV (NAG2, NB12, NB18 et ND3) comprenant les écotypes des régions de Béchar (NB12, NB18), de Timimoun (NAG2) et l'écotype ND3 originaire de Djanet et
- Le groupe V (écotypes NAT9, ND4) incluant un écotipe d'Adrar (NAT9) et un de Djanet (ND4).

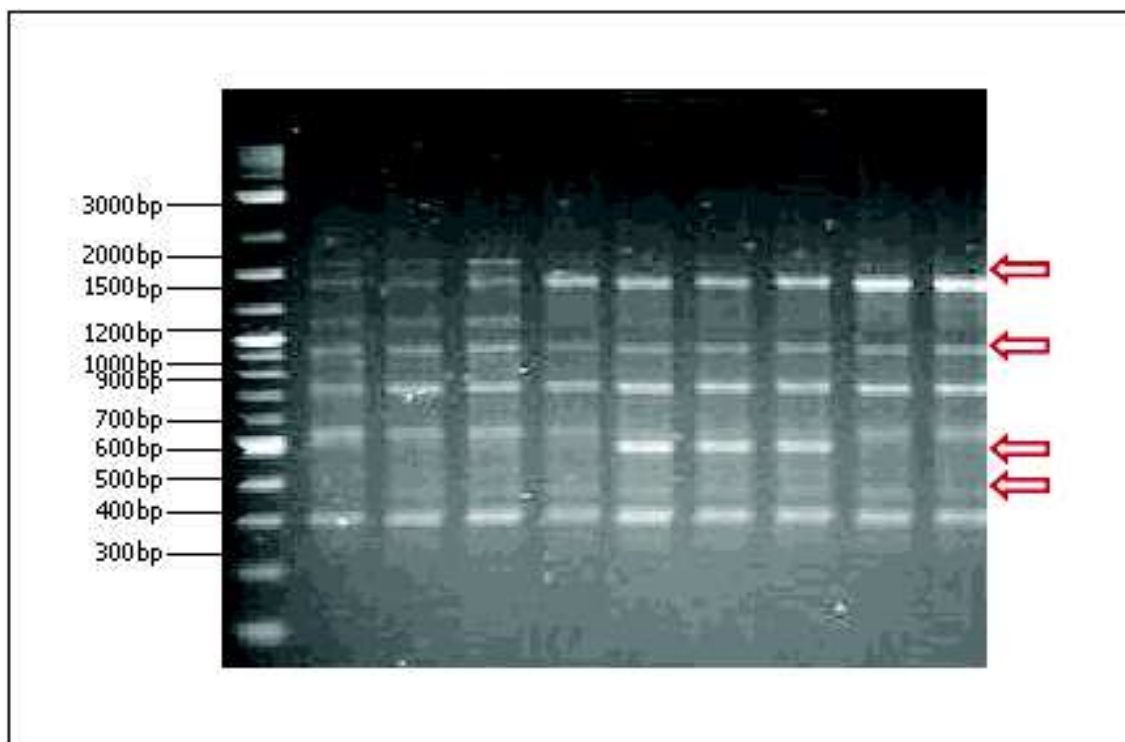


Figure 74 : Profils d'amplification de l'ADN de neuf écotypes de niébé par ISSR obtenus avec l'amorce A841 (de gauche à droite : marqueur 2-Log DNA Ladder , NE5, NE4, NKT4, NKT7, NE11, NKT5, NAG4, NB18, NB12, NAG2. Les flèches indiquent les bandes polymorphes.

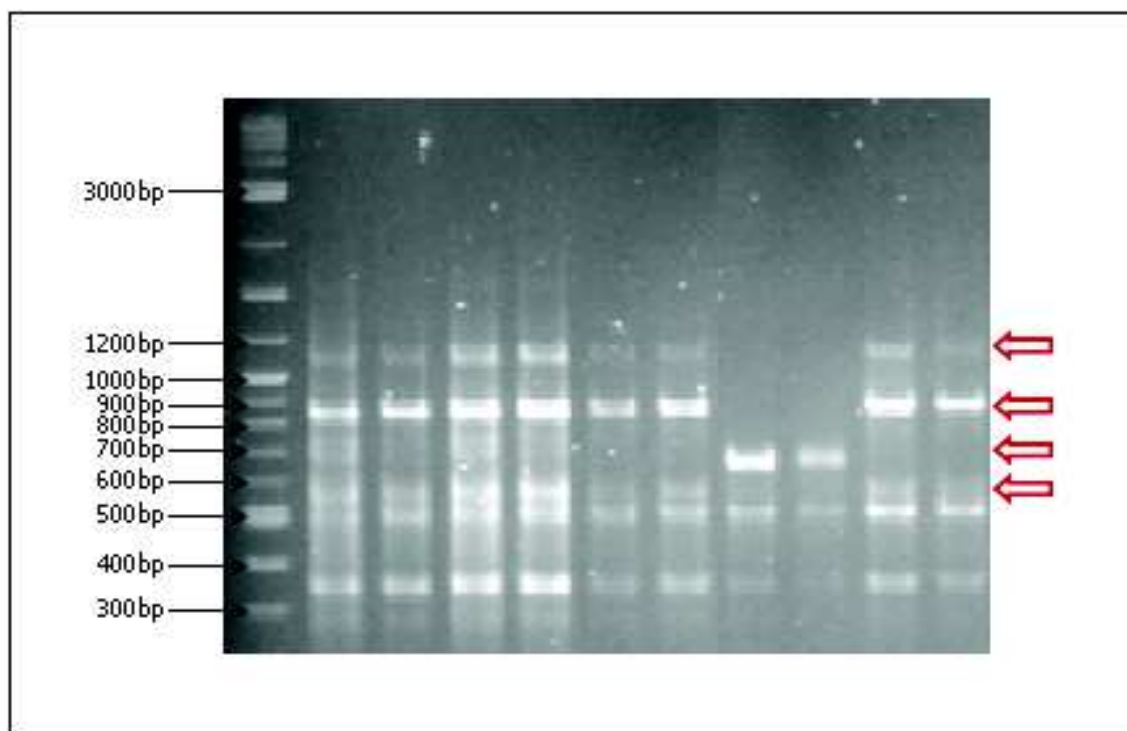


Figure 75 : Profils d'amplification de l'ADN de dix écotypes de niébé par ISSR obtenus avec l'amorce A812 (de gauche à droite : marqueur

2-Log DNA Ladder, NE5, NE4, NKT4, NKB7, NAG4, NB18, NG7, ND6, NB12, NAG5. Les flèches indiquent les bandes polymorphes.

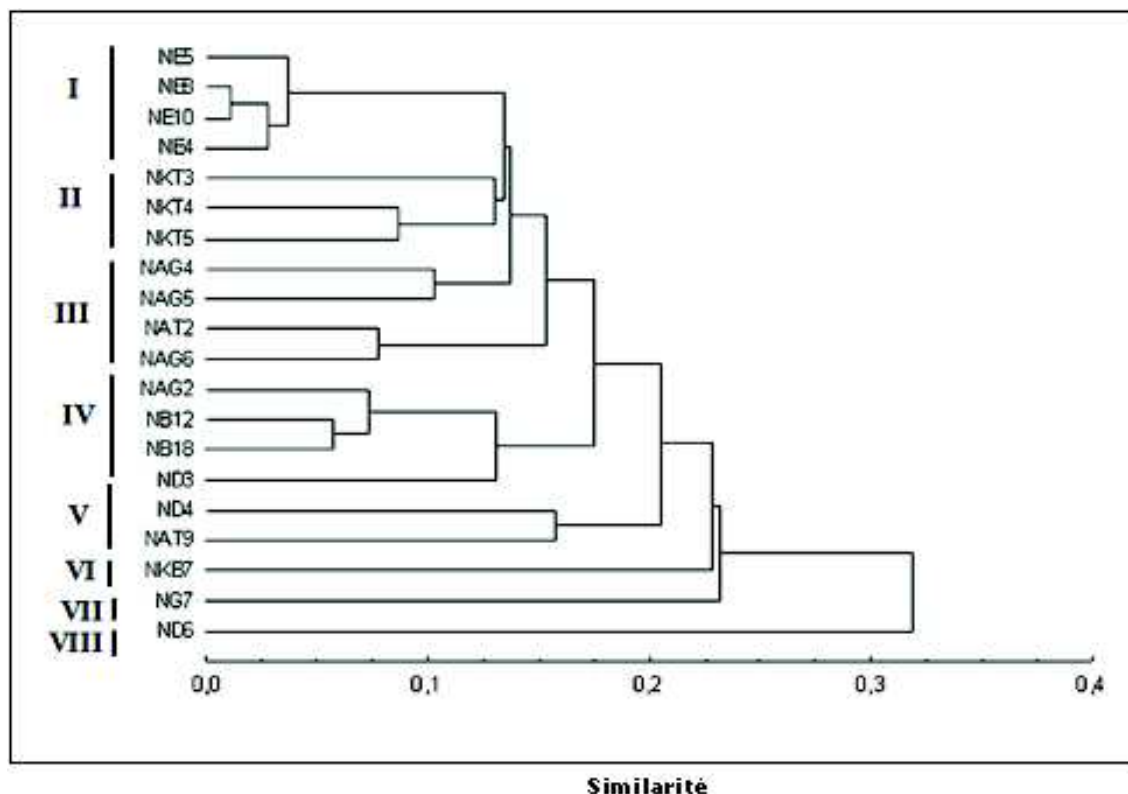


Figure 76 : Dendrogramme généré par analyse UPGMA montrant les relations entre les écotypes algériens de niébé en utilisant les marqueurs moléculaires ISSR sur la base de la matrice de similarité de Jaccard.

L'analyse en composantes principales des données binaires engendrées par les marqueurs ISSR a permis de faire ressortir trois composantes principales absorbant 32,35 % de l'inertie totale. La représentation graphique de la projection des 19 écotypes analysés par ISSR (figure 77) dans les plans définis par l'axe 1 et l'axe2 de l'ACP montre le détachement de certaines écotypes (ND6, NKB7, NAT9 ET NG7) de l'ensemble par rapport à l'axe 1 qui absorbe le maximum de variabilité (15,96 %).

Ces résultats confirment ceux du dendrogramme qui isolent les 4 écotypes des autres. L'axe 2 qui représente seulement 8,98 % de la variation totale permet le regroupement des accessions (NAG2, ND3, NB18 , NB12 et ND4) originaire des oasis du Sahara, des accessions (NE4, NE8, NE10, NKT4 et NKT3) provenant du nord du pays (la Kabylie et El Kala), des accessions NKT5 (Tizi-Ouzou) et NAG4 (Adrar) caractérisées par la même couleur des graines (noire).

La différenciation des 19 écotypes de niébé sur la base des résultats moléculaires ISSR analysés par ACP reflète mieux les résultats basés sur les critères morpho-agronomiques par rapport à la RAPD.

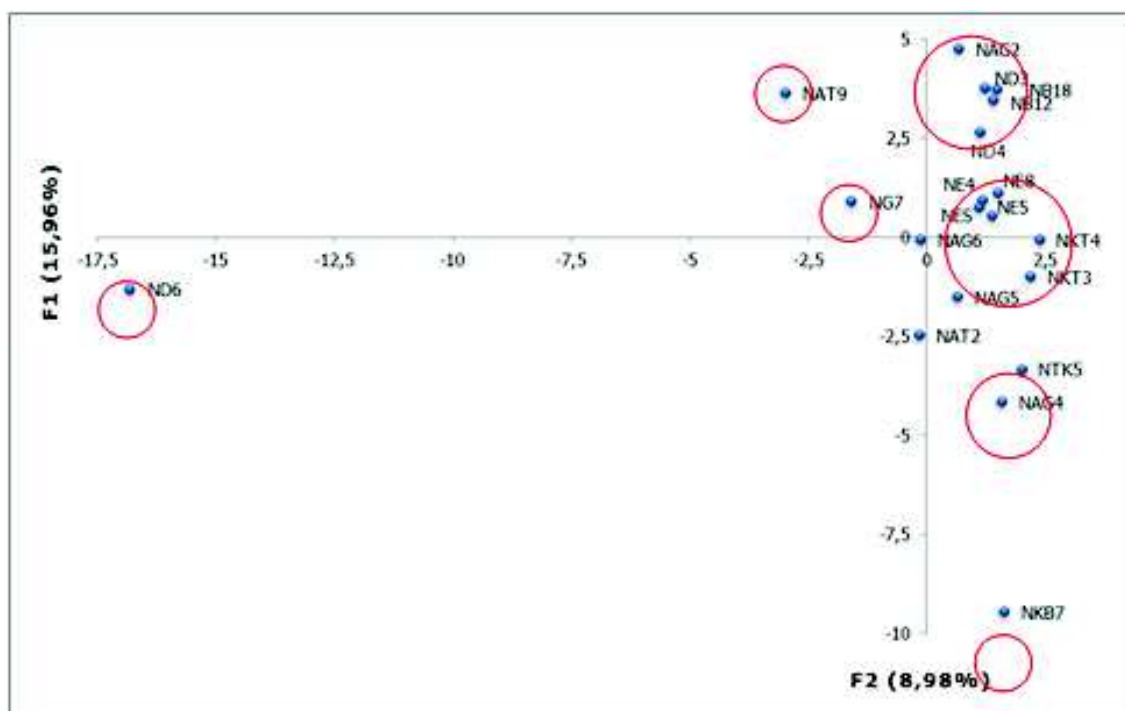


Figure 77 : Analyse en composantes principales de 19 écotypes de *Vigna unguiculata* en considérant la distance génétique analysée par ISSR.

3.3. Comparaison des données morphologiques, moléculaires et géographiques

Quand les deux séries de données en ISSR et en RAPD sont considérées ensemble, 5 groupes peuvent être visualisés (Figure 78).

- Le groupe I représenté par les écotypes d'El Kala (NE5, NE8, NE10 et NE4) ;
- Le groupe II comprenant les écotypes de la Kabylie (Tizi-Ouzou) (NKT3, NKT4 et NKT5) ;
- Le groupe III caractérisé par les écotypes d'Adrar (NAG4, NAG5, NAT2 et NAG6) ;
- Le groupe IV représenté par les écotypes des régions de Béchar (NB12, NB18) et de Timimoun (NAG2);
- Le groupe V comprenant deux écotypes de Djanet (ND3 et ND4).
- Une fois encore, les écotypes NKB7 de Béjaia, NG7 d'El Goléa et ND6 de Djanet ont été classés séparément.

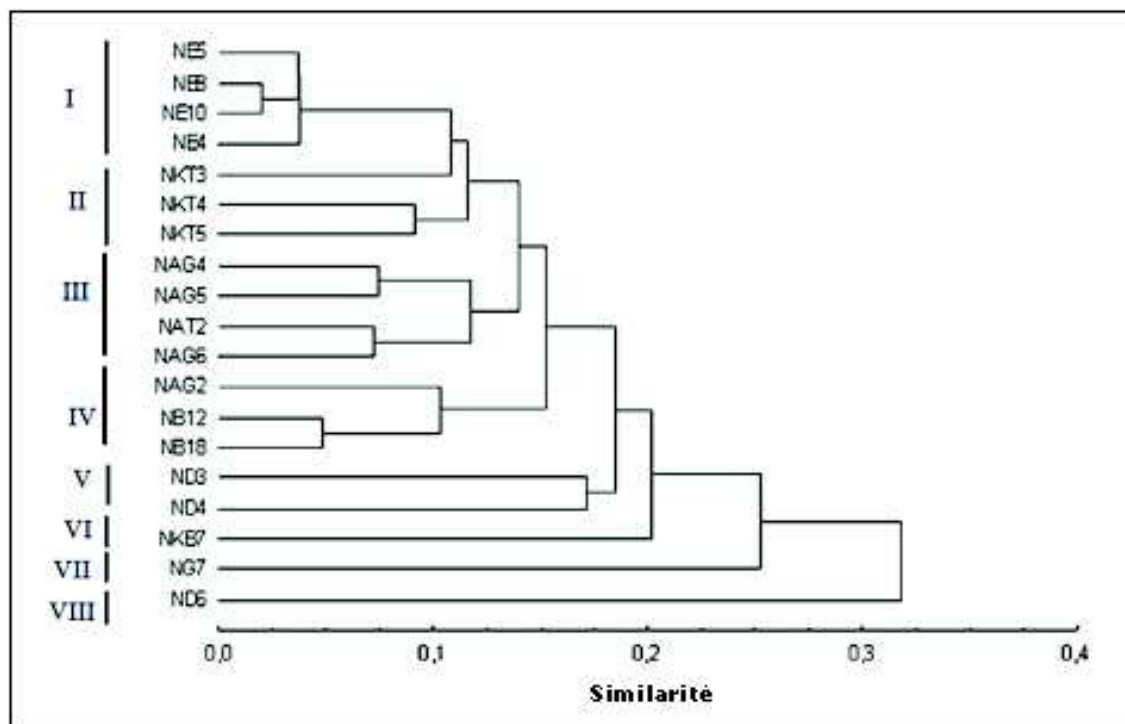


Figure 78 : Dendrogramme généré par analyse UPGMA montrant les relations entre les écotypes algériens de niébé en combinant les marqueurs RAPD et ISSR sur la base de la matrice de similarité de Jaccard.

Les relations entre les données génétiques (RAPD, ISSR), morphologiques et géographiques sont examinées à travers un test de Mantel.

- Premièrement, le test de Mantel a révélé une corrélation significative entre les données morphologiques qualitatives et les données géographiques ($R=0,28$; $p<0,01$), ce qui indique que la variation morphologique correspond aux différences de distribution géographique.
- Deuxièmement, il y a des corrélations significatives entre les données génétiques et géographiques ($R=0,33$; $p<0,01$, pour la RAPD), ($R=0,37$; $p<0,01$, pour l'ISSR) et ($R=0,33$; $p<0,01$, pour la RAPD et l'ISSR combinés). Ce résultat reflète le fait que les distances génétiques entre les accessions sont significativement corrélées avec les distances géographiques correspondantes et qu'il existe un effet global de la distance géographique sur la distance génétique.
- Troisièmement, les profils de la variation des données morphologiques qualitatives ont été comparés avec les données génétiques. Il n'y avait pas de corrélation significative avec les données génétiques si on considère la RAPD ($R=0,14$; $p=0,14$). Cependant, il y avait une corrélation légèrement significative quand les marqueurs ISSR étaient utilisés ($R=0,27$; $p<0,05$) et quand les marqueurs RAPD et ISSR sont considérés ensemble ($R=0,22$; $p<0,05$).

Par conséquent, les marqueurs ISSR reflètent plus étroitement les différences dans les traits morphologiques rencontrés entre les écotypes.

Finalement, nous avons utilisé le test de Mantel pour comparer les différentes matrices génétiques (RAPD, ISSR, RAPD-ISSR) deux à deux. Toutes les corrélations étaient significatives ($p<0,01$). La valeur de la corrélation était de $R=0,83$ entre l'ISSR et la RAPD.

Par conséquent, la distance génétique entre les écotypes était similaire quel que soient les marqueurs choisis.

4. DISCUSSION

4.1. CARACTÉRISATION MORPHOLOGIQUE ET CLASSIFICATION EN CULTIGROUPES

Notre étude a porté sur la comparaison de 20 écotypes originaires de différentes régions de l'Algérie au niveau morphologique et génétique. Au niveau morphologique, les caractères qualitatifs et quantitatifs de 18 écotypes ont été considérés. Si on considère les variations intra-écotypes, nos résultats ont montré tout d'abord que pour les caractères qualitatifs aucune variation n'a été observée et ensuite que pour les traits quantitatifs, la variation était généralement faible à part pour NAG2 qui montrait les valeurs de CV les plus importantes pour tous les caractères.

Cette variabilité peut être expliquée par la susceptibilité de cet écotpe à l'antracnose qui a attaqué la culture de niébé durant l'essai.

L'homogénéité intra-écotype est assez logique pour une plante autogame. Les écotypes des plantes autogames comme le niébé possèdent souvent une faible variabilité entre les individus (Nkongolo, 2003). La pratique de l'agriculture traditionnelle pour la culture du niébé en Algérie (consistant en la culture de grains obtenues à partir du même champs de génération en génération sans importation de graines étrangères) contribue probablement à l'uniformité génétique en renforçant les adaptations locales spécifiques (Ehlers et Hall, 1997 ; Li *et al.*, 2001 ; Badiane *et al.*, 2004).

Le degré d'homogénéité que nous avons observé nous a conduit à comparer les écotypes au lieu de comparer les individus. Ces comparaisons ont été réalisées de différentes manières. Pour les caractères morphologiques, l'analyse de groupement a indiqué que la variabilité entre les écotypes était plus grande pour les traits quantitatifs que pour les traits qualitatifs.

L'analyse des résultats agro-morphologiques a montré des relations étroites entre certains écotypes, cela est dû probablement à leur collecte dans des endroits similaires du point de vue climat et type de sol et aux échanges de graines entre les fermiers de régions proches.

Les distances génétiques observées entre les écotypes algériens étudiés sont relativement faibles suggérant une origine commune. Une faible variation génétique avait également été observée dans une étude précédente basée sur le polymorphisme des isoenzymes des accessions de niébé collectées dans différentes régions en Algérie (les montagnes de Kabylie : Tizi-Ouzou dans le nord et les oasis dans le sud : Djinet, Timimoun, El Goléa et Adrar) (Echikh, 2000). Cependant, aucune étude n'a comparé les écotypes algériens à ceux d'autres pays. En Afrique, de hauts niveaux de variation entre les écotypes d'un même pays ont été rapportés. Par exemple, une grande variation génétique a été décrite entre les écotypes de niébé au Malawi où la distance génétique atteignait 0,57 (Nkongolo, 2003). Cela est probablement dû au rapprochement de ces régions du centre d'origine et de domestication du niébé en Afrique.

Les différences entre les écotypes locaux algériens sont liées à la fois à la distance géographique (variation des conditions agro-écologiques) et probablement à des différences dans les techniques culturales pratiquées dans chaque région. On peut classer ces écotypes locaux dans trois des cinq cultigrupes existants (Pasquet, 1998). Les formes sahariennes à graines noires ou beige-brunes et brunes (NAG4, NAT2, NAG6, NAG2, NB12, NB18 et ND4) et l'écotype à graines brunes d'El Kala (NE10) et une variété locale à graines noires de la Kabylie (NKT5), appartiennent au cultigrupe Biflora, qui se caractérise par des gousses plutôt courtes, à faible nombre de locules, à petites graines colorées qui peuvent être lisses ou cylindriques et des fleurs qui sont le plus souvent colorées (Padulosi, 1993 ; Pasquet, 2000). Ce cultigrupe est présent dans l'ensemble de la zone soudano-sahélienne du nord de l'Afrique ainsi que dans les oasis du Sahara, mais il tend à disparaître (Chevalier, 1944). Nos résultats concordent avec une étude qui a classé les formes sahariennes dans le groupe Biflora (Echikh, 2000).

Echikh (2000) indique que les formes sahariennes sont caractérisées par de petites graines lisses, noires, crèmes-marron ou brunes. On note que, par rapport aux variétés locales du sud algérien, les écotypes du nord produisent des gousses et des graines plus grandes. Selon nos investigations, les écotypes du nord NE10 et NKT5 semblent être originaires du Sahara et se sont adaptés aux conditions locales du Nord du pays.

Les autres écotypes de Kabylie (NKT3, NKT4), certains écotypes d'El Kala (NE5, NE8 et NE4) et certains écotypes sahariens (NAG5 et NAT9) partagent des caractéristiques morphologiques avec le cultigrupe Melanophtalma (Pasquet, 1998). Ce cultigrupe est caractérisé par des graines ridées, des fleurs et des graines en partie blanches avec moins de 17 ovules par gousse (Pasquet, 1998). Le cultigrupe Melanophtalma rassemble des cultivars photosensibles à gousses souvent de grande taille et surtout à graines à tégument fripé au lieu de lisse, ce qui est très avantageux d'un point de vue culinaire : le tégument est facile à retirer et la cuisson est plus rapide (Pasquet, 1994).

Anoun et Echikh (1990) entreprirent la première étude biosystématique de ces formes cultivées.

Cette dernière étude a permis de placer les formes sahariennes dans le cv-gp. Biflora et les formes des montagnes du nord de l'Algérie dans le cv-gp Melanophtalma. Echikh (2000) a aussi classé les écotypes Kabyles dans le cultigrupe Melanophtalma, qui inclut des cultigrupes photo-indépendants qui peuvent être récoltés deux fois par an. Ce cultigrupe est surtout ouest-africain, rencontré aussi dans le bassin méditerranéen et aux États-Unis (Pasquet, 1994).

En outre, nous avons noté que les formes sahariennes (NAG5 et NAT9) qui partagent les mêmes caractères qualitatifs (couleur, texture et forme de la graine, couleur de la fleur et pigmentation des gousses) avec le cultigrupe Melanophtalma ont des dates de floraison plus tardives et une production plus faible sous les conditions climatiques et édaphiques du nord de l'Algérie, suggérant que ces cultivars sahariens (NAG5 et NAT9) ont été introduits à partir du nord du pays et se sont étroitement adaptés aux conditions agro-climatiques locales.

Selon Echikh (2000), le cultigrupe Biflora aurait été domestiqué par les peuples tchadiques à partir de formes textiles primitives de l'Ouest africain. Ensuite, il aurait évolué pour donner le cultigrupe Melanophtalma, beaucoup plus récent avec ses graines à tégument fin et ridé (Pasquet, 1994). Ceci pourrait expliquer le relatif polymorphisme des formes sahariennes par rapport aux formes Kabyles du nord de l'Algérie lors des analyses iso-enzymatique (Echikh, 2000). Les formes sahariennes auraient été introduites à partir

du Nord-est africain, considéré actuellement comme une zone présumée de domestication des formes cultivées de *V. unguiculata* (Echikh, 2000). Le stock génétique initial aurait été préservé en raison de l'isolement extrême des oasis du Sahara (Echikh, 2000).

Les caractères morphologiques des écotypes ND6 de Djanet, NKB7 de Béjaia, et NG7 d'El Goléa ont indiqué que ces écotypes appartiennent au cultigroupe Unguiculata, qui comprend des cultivars caractérisés par des graines lisses et rhomboïdes et des gousses avec des longueurs allant de 12 à 30 cm et à nombre d'ovules élevé (Pasquet, 1994 ; Westphal, 1974). Ce cultigroupe est rencontré habituellement dans toute la zone guinéenne et dans la partie sud du continent africain (Pasquet, 1994).

4.2. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE

Tous les individus du même écotpe ont été génétiquement identiques à la fois en RAPD et en ISSR. La variabilité au sein d'un écotpe est donc très faible. Ceci est cohérent avec les données morphologiques.

Nkongolo (2003) a signalé que les espèces autogames comme le niébé possèdent souvent une faible variabilité intra-écotypes. Pasquet (2000) a trouvé une distance génétique intra- accessions de seulement 0,002 chez le niébé analysé par alloenzymes, ce qui l'a conduit à estimer que la diversité entre les accessions était responsable de la plus grande part de la diversité génétique chez le niébé.

Des études précédentes utilisant les alloenzymes, la RAPD et les microsatellites ont indiqué peu de variation entre les individus de niébé (Doebly, 1989 ; Pasquet, 2000 ; Li *et al.*, 2001 ; Tosti et Negri, 2002). Des niveaux relativement bas de diversité génétique à la fois inter et intra écotypes de niébé cultivés peuvent être le résultat d'un événement initial unique (Pasquet, 2000). Le niébé a plus que probablement été domestiqué en une seule fois (Pasquet, 1999), à l'inverse du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) qui résulte d'au moins deux épisodes de domestication (Singh *et al.* 1991).

La RAPD est une méthode largement utilisée pour étudier le polymorphisme génétique chez le niébé (Ba *et al.*, 2004 ; Badiane *et al.*, 2004 ; Nkongolo, 2003 ; Fall *et al.*, 2003), elle a révélé de grands niveaux de polymorphisme (de 73 à 93%) entre les écotypes de *Vigna subterranea* (L.) Verdc.) (Massawe *et al.*, 2002). On notera que deux études des marqueurs RAPD chez le niébé ont aussi mis en évidence des niveaux relativement élevés de diversité, une parmi les accessions cultivées et sauvages de niébé originaires d'Afrique et d'Asie du sud est (Ba *et al.*, 2004) et l'autre parmi les écotypes de niébé du Malawi (Nkongolo, 2003).

Par ailleurs, d'autres études de RAPD ont décrit des niveaux faibles de polymorphisme, entre 13 écotypes de niébé originaires de l'Italie avec un taux de polymorphisme de 18,5 % (Tosti et Negri, 2002) et un taux de polymorphisme de 12 % entre des variétés améliorées de niébé (Menendez *et al.* 1997). Notre étude a montré un polymorphisme génétique de 58 % de bandes polymorphes entre les 20 écotypes de niébé étudiés en utilisant des amorces pré-sélectionnées et très informatives déjà utilisées par Ba *et al.*, (2004). Les individus appartenant au même écotpe ont donné les mêmes profils génétiques ce qui souligne l'homogénéité génétique. Par conséquent, toutes nos comparaisons génétiques ont été réalisées au niveau de l'écotype.

Les marqueurs RAPD ont révélé une distance génétique variant de 0,033 (entre les écotypes NE3 et NE10) à 0,34 (entre les écotypes NE5 et ND6). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus pour l'espèce *Vigna radiata*(L.) Wilczek sur 32 cultigroupes indiens où les distances génétiques variaient de 0,06 à 0,30 (Lakhanpaul *et al.*, 2000).

Une certaine homogénéité géographique existe à l'intérieur des groupes (figure 69) puisque le groupe I comprend les écotypes du nord de l'Algérie, le groupe II comprend la plupart des écotypes du centre de l'Algérie et le groupe III comprend les écotypes du sud-est algérien. Cependant, trois écotypes semblent différents : NKT7, de Béjaïa au nord, NG7, d'El Goléa du centre et l'écotype ND6 de Djanet dans le sud-est du pays. Par conséquent, l'origine géographique seule ne peut expliquer les variations génétiques entre les écotypes de niébé de l'Algérie.

L'AMOVA a montré que la variabilité entre les régions géographiques était plus grande que la variabilité dans une même région. Par conséquent, cela suggère que les écotypes présents dans la même région sont génétiquement plus liés et probablement appartiennent au même cultigroupe.

Les marqueurs ISSR ont été utilisés avec succès pour analyser les motifs répétés chez l'espèce *Vigna mungo* (L.) Hepper (Singh *et al.*, 2000), ainsi que pour les relations génétiques entre plusieurs espèces du genre *Vigna* (Ajibade *et al.*, 2000) et l'identification des variétés de haricot (*Vigna radiata*(L.) Wilcz.) (Ranade *et al.*, 2000). Le potentiel discriminatoire des marqueurs ISSR dépend de la variété et de la fréquence des microsattellites qui change avec les espèces et les motifs répétés ciblés (Depeiges *et al.*, 1995).

La reproductibilité des fragments générés par les amorces d'ISSR est supérieure à celle obtenue avec les amorces arbitraires utilisées en RAPD comme décrit précédemment (Ajibade *et al.*, 2000).

Quand les marqueurs ISSR ont été analysés, les écotypes testés se sont encore révélés homogènes (aucune différence intra-écotype). Les groupes produits par les marqueurs ISSR sont similaires à ceux trouvés en RAPD. Encore une fois, les écotypes NKB7, NG7 et ND6 diffèrent clairement des autres groupes et aussi entre eux.

Dans notre étude, le niveau de polymorphisme observé par ISSR était assez élevé (62,5 % de bandes polymorphes). Le nombre de fragments polymorphes et discriminants est plus grand en utilisant l'ISSR par rapport à la RAPD. Des résultats similaires ont été obtenus pour d'autres espèces dans des études préalables (arachide, haricot commun, haricot mungo, la châtaigne) (Raina *et al.*, 2001 ; Goulao *et al.*, 2001, Souframanien et Gopalakrishna, 2004 ; Marotti *et al.*, 2007). Ceci est dû au fait que l'ISSR amplifie les régions microsattellites qui sont potentiellement polymorphe (Marotti *et al.*, 2007). En fait, l'ISSR a une grande capacité à mettre en évidence le polymorphisme génétique et offre un grand potentiel pour déterminer la diversité intra et inter-génomique en comparaison à d'autres techniques basées sur des amorces arbitraires comme la RAPD (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Cependant, pour l'espèce *Vigna umbellata* (Thunb) Ohwi et Ohashi, les loci les plus polymorphes ont été détectés par RAPD (70,30 %) plutôt que par ISSR (61,79 %) (Muthusamy *et al.*, 2008).

Notre étude a montré que les amorces avec des séquences répétées AC, CA, AG et GA produisaient un nombre plus important de polymorphismes, confirmant les résultats d'une étude précédente (Ajibade *et al.*, 2000). Cette dernière indiquait que les deux répétitions (GA et CA) révélaient approximativement des niveaux équivalents de polymorphisme. Huit amorces contenant des répétitions GA et les 4 amorces contenant la répétition CA ont généré respectivement 59 % et 58 % de bandes polymorphes. Ceci confirme que ces amorces sont appropriées pour l'analyse phylogénétique dans le genre *Vigna*.

Les analyses RAPD et ISSR combinées ensemble sur les 19 écotypes étudiés ont confirmé ,les conclusions précédentes, mais avec plus de précisions. L'analyse de groupement (figure 78) a indiqué que la combinaison de marqueurs RAPD et ISSR donnait

de meilleurs résultats que l'utilisation d'une classe unique de marqueur. En outre, excepté pour les trois écotypes plus particuliers appartenant probablement au même cultigrroupe *Unguiculata*, la diversité génétique au sein des variétés locales est cohérente avec la distribution géographique des écotypes des deux cultigrroupes *Biflora* et *Melanophtalma* entre chaque région. Des corrélations significatives dans le test de Mantel soulignent cette conclusion. Un grand degré de congruence a été obtenu parmi les écotypes quand nous avons utilisé les données de RAPD et d'ISSR. Ceci peut s'expliquer par le fait que ce sont toutes deux des méthodes basées sur la PCR qui utilisent des amorces non spécifiques et qui donnent des fragments amplifiés du même ordre de grandeur de taille.

5. CONCLUSION

En conclusion, cette étude révèle pour la première fois la classification des écotypes algériens de niébé par rapport aux grands groupes de cultivars décrits au sein de l'espèce et de leurs origines géographiques, à la fois par la caractérisation moléculaire et morphologique. Aucune variabilité génétique intra écotype n'a été trouvée, et la variabilité inter écotype est faible au sein des groupes et entre les grands ensembles, sauf pour trois écotypes locaux nettement différents. Pour les caractères morphologiques, les distances génétiques observées entre les écotypes algériens étudiés sont relativement faibles suggérant une origine commune.

Les différences entre les écotypes locaux algériens sont liées à la fois à la distance géographique (variation des conditions agro-écologiques) et probablement à des différences dans les techniques culturales pratiquées dans chaque région.

Trois cultigrroupes différents ont été identifiés en Algérie:

- Le cultigrroupe *Biflora* qui comprend les formes sahariennes à graines noires ou beige-brunes et brunes (NAG4, NAT2, NAG6, NAG2, NB12, NB18 et ND4), la population à graines brunes d'El Kala (NE10) et un écotype à graines noires de la Kabylie (NKT5),
- Le cultigrroupe *Melanophtalma* surtout présent dans le Nord avec les écotypes de Kabylie (NKT3, NKT4), ensemble avec certains écotypes d'El Kala (NE5, NE8 et NE4) et certains écotypes sahariens (NAG5 et NAT9) et
- Le cultigrroupe *Unguiculata* qui comprend les écotypes ND6 de Djanet, NKB7 de Béjaïa, et NG7 d'El Goléa.

Par ailleurs, nous avons évalué la diversité génétique par deux techniques moléculaires : RAPD et ISSR. Les divers efforts de mise au point des paramètres de la PCR ont abouti au développement d'un protocole d'amplification spécifique au niébé par RAPD et ISSR. Ces protocoles ont ainsi généré des profils électrophorétiques clairs, polymorphes et reproductibles sur gels d'agarose et ont permis de distinguer les 20 écotypes étudiés.

L'analyse par RAPD a montré un polymorphisme génétique de 58 % entre les 20 écotypes de niébé étudiés en utilisant des amorces pré-sélectionnées et très informatives déjà utilisées par Ba *et al.*, (2004). L'AMOVA a montré que la variabilité entre les régions géographiques était plus grande que la variabilité dans une même région. Par conséquent, cela suggère que les écotypes présents dans la même région sont génétiquement plus liés et probablement appartiennent au même cultigrroupe.

L'analyse par ISSR a été plus discriminante que par la RAPD, le nombre de fragments polymorphes (62,5 % de bandes polymorphes) et discriminants est plus grand en utilisant l'ISSR par rapport à la RAPD et a permis de montrer un polymorphisme génétique inter accessions plus élevé. Les groupes produits par les marqueurs ISSR sont similaires à ceux trouvés en RAPD. Les écotypes NKB7, NG7 et ND6 diffèrent clairement des autres groupes et aussi entre eux.

Les analyses RAPD et ISSR combinées ont donné de meilleurs résultats que l'utilisation d'une classe unique de marqueur. L'analyse cumulant les données ISSR et RAPD-ISSR combinés a généré une phylogénie analogue à celle révélée par l'analyse des caractères morphologiques. En outre, excepté pour les trois écotypes plus particuliers appartenant probablement au même cultigrroupe *Unguiculata*, la diversité génétique au sein des variétés locales est cohérente avec la distribution géographique des écotypes des deux cultigrupes *Biflora* et *Melanophthalma* entre chaque région. Des corrélations significatives dans le test Mantel souligne cette conclusion. Un grand degré de congruence a été obtenu parmi les écotypes quand nous avons utilisé les données de RAPD et d'ISSR.

Enfin, nos résultats ont montré que les techniques moléculaires RAPD et ISSR peuvent être utilisées pour quantifier les distances génétiques entre les écotypes de niébé. Les améliorateurs peuvent maximiser l'utilisation des ressources génétiques en gardant à l'esprit ces différences génétiques entre les variétés locales algériennes.

Nos résultats constituent une base très solide pour une meilleure compréhension de la structure et de la diversité génétique du niébé cultivé en Algérie.

Cependant, d'autres procédures d'analyses (notamment basées sur l'application de marqueurs codominants) seraient certainement intéressantes à développer pour confirmer nos résultats.

Il faut également souligner que la plus grande partie de la diversité génétique du niébé se localise en Afrique. Une étude comparative des accessions collectées en Algérie avec des accessions de niébé provenant de ces zones de culture pourrait nous éclairer d'avantage sur le comportement et la structure de la diversité génétique de cette espèce.

Après la caractérisation de ces écotypes algériens, l'exploitation de leur potentiel de résistance aux stress biotique et abiotique devra être envisagée. Particulièrement pour les écotypes sahariens qui représentent une possible source de résistance aux conditions arides extrêmes : hautes températures, sécheresse et salinité des sols et de l'eau d'irrigation. Ces cultivars devront être exploités dans les programmes d'amélioration sur la résistance au stress hydrique, thermique et salin.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

1. CONCLUSION GÉNÉRALE

En Algérie, le niébé est cultivé traditionnellement dans plusieurs zones distinctes : le nord (Kabylie, El Kala), le sud-ouest, les oasis du Sahara (El Goléa, Adrar et Béchar) et au sud-est du pays (Djanet, Tamanrasset). Les écotypes locaux de niébé, maintenus pendant plusieurs siècles dans des conditions écologiques différentes, ont pu accumuler une importante diversité génétique.

Après la détermination des limites écologiques de la culture traditionnelle du niébé en Algérie, les régions identifiées ont été prospectées et 121 accessions locales ont été collectées. Pour préserver le matériel génétique local d'une véritable érosion amplifiée par la concurrence avec d'autres cultures, des collections ont été mises en place à l'ITCMI et à l'ENSA (ex INA) (conservation *ex situ*). L'évaluation préliminaire de cette collection a mis en évidence une grande diversité morphologique entre les graines en provenance des différentes régions du pays.

Pour une meilleure évaluation et valorisation des écotypes locaux, des enquêtes ethnobotaniques et agronomiques ont été réalisées dans les agro-systèmes traditionnels de la Kabylie et des oasis du Sahara. Ces enquêtes ont permis d'évaluer le niveau de l'agro-diversité en identifiant les pratiques agricoles traditionnelles basées sur l'utilisation des écotypes locaux. Les pratiques paysannes ont subsisté avec le temps et sont les uniques moyens actuellement disponibles réellement pour préserver la diversité du niébé en Algérie. Toutefois, les savoirs paysans à eux seuls ne suffisent plus pour conserver la diversité de cette espèce. Les semences autochtones de niébé encore conservées par les paysans doivent faire l'objet d'une sauvegarde avec l'élaboration d'une stratégie de conservation *in situ* (conservation des écotypes dans leurs milieux naturels) dans les zones traditionnelles de culture de cette espèce, afin de préserver ce patrimoine local avant son extinction.

Le présent travail a permis d'atteindre les objectifs fixés, à savoir la définition de procédures phénotypiques et moléculaires nécessaires pour l'établissement de bases génétiques nécessaires pour la gestion et l'exploitation rationnelle des ressources génétiques du niébé algérien. Tout au long de nos travaux de recherche, la caractérisation agro-morphologique basée sur les traits phénotypiques des différents écotypes de niébé a indiqué une relation entre la structuration des écotypes et leur origine géographique, d'une part, et leurs caractéristiques morphologiques d'autre part (proximité des écotypes présentant la même origine géographique ou les mêmes caractéristiques morphologiques). Cette caractérisation a permis aussi de révéler un polymorphisme inter écotypes et d'établir une fiche descriptive des caractères de chaque accession. Selon l'importance morpho-agronomique de certains traits, nous avons ainsi pu distinguer les écotypes représentant des caractères agronomiques forts intéressants. Les écotypes originaires du nord de l'Algérie sont les plus précoces et les plus productifs. Les écotypes en provenance des oasis du Sahara semblent également posséder de bonnes performances en termes de tolérance à la sécheresse et à la salinité. L'analyse moléculaire des écotypes a permis la mise au point d'un protocole d'extraction de l'ADN génomique et des méthodes d'amplification en PCR

par ISSR et RAPD. L'analyse par les marqueurs RAPD et ISSR a permis de différencier les écotypes étudiés. L'ISSR s'est montrée plus discriminante que la RAPD.

Cette étude a permis également de classer les écotypes algériens sur la base des cultigrupes de niébé existants à la fois par la caractérisation moléculaire et morphologique. Ainsi, trois classes représentant respectivement les cultigrupes *Unguiculata*, *Biflora* et *Melanophthalmus* ont été mises en évidence en Algérie.

2. PERSPECTIVES

Nous considérons nos résultats comme étant une ouverture à des perspectives importantes qui devraient fort probablement aider à l'évaluation de la diversité existante de l'espèce *Vigna unguiculata* en Algérie et l'identification des écotypes présentant un intérêt certain pour les programmes de création variétale. Comme cela est souvent le cas en recherche, ces résultats soulèvent de nouvelles questions et ouvrent la voie à des travaux futurs :

- Les écotypes de niébé collectés ne sont pas représentatifs de toutes les situations agro-écologiques de l'Algérie. D'autres missions de prospections et de collectes doivent concerner la région du Hoggar (Tamanrasset) où la culture de niébé est aussi présente.
- Notre travail doit être complété par une étude du comportement des écotypes locaux de niébé dans des sites présentant des conditions agro-écologiques différentes, ceci nous permettra d'étudier l'interaction génotype-environnement et mieux les évaluer pour les traits phénotypiques ou agronomiques quantitatifs qui sont fortement influencé par le milieu.
- La confrontation des résultats de l'analyse des ressources algériennes du niébé à ceux de certains pays méditerranéens et africains pourrait nous éclairer d'avantage sur le comportement et la structure de la diversité génétique de cette espèce en Algérie.
- L'utilisation de marqueurs moléculaires plus performants comme les microsatellites (SSR) et le Polymorphisme nucléotidique simple (SNP) doit être envisageable pour l'étude de la diversité du niébé en Algérie. D'autre part, la technique AFLP est plus discriminante que les techniques de RAPD et ISSR utilisées et pourrait éventuellement permettre la mise en évidence de différences entre les individus d'un même écotype.
- Après la caractérisation, l'exploitation du potentiel de résistance aux stress biotique et abiotique des écotypes locaux devra être envisagée. Particulièrement pour les écotypes sahariens qui représentent une possible source de résistance aux conditions arides extrêmes : températures élevées, sécheresse et salinité des sols et de l'eau d'irrigation. Ces cultivars doivent être exploités dans des programmes d'amélioration par l'identification de gènes codant pour les caractères agronomiques d'intérêt, ceci sera d'un apport important non seulement pour la sélection mais aussi pour la compréhension des mécanismes physiologiques sous-jacents.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adeyanju AO., Ishiyaku MF., Omoigui L.O. 2007. Inheritance of time to first flower in photo-insensitive cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Asian J. Plant Sci.* 6: 435-437.
- Ahenkora K., Adu Dapaah H.K., Agyemang A. 1998. Selected nutritional components and sensory attributes of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) leaves. *Plant Foods Hum Nutr.* 52: 221–229.
- Ahmed F.E., Hall A.E., De Mason D.A. 1992. Heat injury during floral bud development in cowpea (*Vigna Unguiculata Fabaceae*). *Am. J. Bot.* 79: 784-791.
- Ahmed F.E., Hall A.E. 1993. Heat injury during early floral bud development in cowpea. *Crop. Sci.* 33 (4): 764-767.
- Ajibade S.R., Weeden N.F., Chite S.M. 2000. Inter simple sequence repeat analysis of genetic relationships in the genus *Vigna*. *Euphytica.* 111: 47–55.
- Aliboh V.O., Kehinde O.B., Fawole I. 1996. Inheritance of leaf mark, pod dehiscence and dry pod colour in crosses between wild and cultivated cowpeas. *Afr. Crop. Sci. J.* 5 (2): 283-288 .
- Allal-Benfkih L. 2006. Recherches quantitatives sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (Orth. Oedipodinae) dans le Sahara algérien. Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganismes pathogènes et de peptides synthétiques. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, Faculté de Sciences et Techniques, 140 p.
- Anoun N, Echikh N. 1990. Étude biosystématique d'une légumineuse saharienne: le Tadelaght. Mémoire DES. Univ. Sci. Technol. Houari Boumedienne. Bab Ezzouar, Algérie, 101 p.
- Arbizu C., Blas R., Holle M., Vivanco F., Ghislain M. 1997. Advances in the morphological characterization of oca, ulluco, mashua, and arracacha collections. The International Potato Center (CIP), Program Report 95-96. Program 2: Germplasm Management and Enhancement. Lima, Perú, pp. 110-117.
- Aryeetey A.N., Laing E., 1973. Inheritance of yield components and their correlation with yield in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). [Euphytica](#) . [22 \(2\)](#) : 386-392.
- Ba F.S., Pasquet R.S., Gepts P. 2004. Genetic diversity in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) as revealed by RAPD markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 51: 539–550.
- Baco M.N, Ahanchédé A., Bello S., Dansi A., Vodouhé R., Biaou G., Lescure J.P. 2008. Évaluation des pratiques de gestion de la diversité du niébé (*Vigna unguiculata*) : une tentative méthodologique expérimentée au Bénin. *Cahiers Agricultures.* 17 (2): 183-188.
- Badiane F.A., Diouf D., Sané D., Diouf O., Goudiaby V., Diallo N. 2004. Screening cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) varieties by inducing water deficit and RAPD analyses. *Afr. J. Biotechnol.* 3: 174-178.

- Battesti V. 2005. Jardins au désert, Évolution des pratiques et savoirs oasiens, Jérid tunisien. Institut de Recherche pour le Développement (IRD) (ed), Paris, France, 440 p.
- Baudoin J.P., Maréchal R. 1985. Cowpea taxonomy, origin and germplasm. In: Cowpea research, production and utilization. Singh S.R., Rachie K.O (eds). Wiley, New York, pp 3-9.
- Baudoin J.P., Demol J., Louant B.P., Otoul E., Maréchal R., Mergeai G. 2002. L'amélioration des plantes Application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. [Les Presses agronomiques de Gembloux](#) (ed), Gembloux, Belgique, 560 p.
- Bornet B., Branchard M. 2001. Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Mol. Biol. Rep.* 19: 209-215.
- Bornet B., Muller C., Paulus F., Branchard M. 2002. High informative nature of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) sequences amplified with tri- and tetra-nucleotide primers from cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) DNA. *Genome*. 45: 890-896.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *J. Hum. Genet.* 32(3): 314-331.
- Boumezbeur A. 1993. Écologie et biologie de la reproduction de l'Erismature à tête blanche (*Oxyura leucocephala*) et du Fuligule nyroca (*Fuligula nyroca*) sur le Lac Tonga et le Lac des Oiseaux (est algérien). Thèse Doctorat. Université des hautes études. Montpellier, France, 254 p.
- Breman H., De Ridder N. 1991. Manuel sur les pâturages des pays sahéliens. Edition Karthala ACCT. Centre de Recherches Agrobiologiques (CABO-DL0). Wageningen, Pays Bas. 485 p.
- Breyne P., Boerjan W., Gerats T., Van Montagu M., Van Gysel A. 1997. Applications of AFLPTM in Plant breeding, molecular biology and genetics. *Mol. Breed.* 3: 87-103.
- Brink M., Belay B. 2006. Cereals and pulses/Céréales et légumes secs. PROTA- Plant resources of tropical Africa. Ed .Wageningen, Pays Bas, 327 p.
- Burkhill I.H. 1953. Habits of man and the origins of the cultivated plants of the old World. *Proc. Linn. Soc. Lond.* 164 (1): 12-42.
- CGIAR 2001. Cowpea (*Vigna unguiculata*). Groupe Consultatif pour la Recherche Agricole Internationale (CGIAR). On line/CGIAR Research: Areas of Research, http://www.cgiar.org/research/res_cowpea.html. Washington, D.C.
- Chevalier A. 1932. Productions végétales du Sahara. *Rev Bot Appl Agric Trop* 12: 133-134.
- Chevalier A. 1944. Le dolique de Chine en Afrique. Son histoire, ses affinités, les formes sauvages et cultivées. Son rôle dans l'alimentation indigène et en agriculture tropicale et sub-tropicale. *Rev Bot Appl Agric Trop.* 24: 128-152.
- Cissé N, Hall A.E. 2003. Traditional Cowpea in Senegal, a case study. 27p.

- www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/publicat/cowpea_Cisse/cowpea_cisse_e.htm.
- Coulibaly S., Pasquet R.S., Papa R., Gepts P. 2002. AFLP analysis of the phenetic organization and genetic diversity of *Vigna unguiculata* L. Walp. reveals extensive gene flow between wild and domesticated types. *Theor. Appl. Genet.* 104: 358–366.
- Craufurd P.Q., Summerfield R.J., Ellis R.H., Roberts E.H. 1997. Photoperiod, temperature and the growth and development of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In *Advances in cowpea research*. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai, L.E.N (eds.), Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS), pp. 75-86.
- Cruz De Carvalho M.H., Laffray D., Louguet P. 1998. Comparaison of physiological response of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* cultivars when submitted to drought conditions. *Environ. Exp. Bot.* 40: 197–207.
- Dagba E., Remy M. 1990. Milieu et port du niébé, *Vigna Unguiculata* (L.) Walpers. *Rev. Cytol. Biol. végét. Bot.* 13 : 5-45.
- De Belair G. 1990. Structure, fonctionnement et perspectives de gestion de quatre éco-complexes lacustres et marécageux (El Kala, Est-Algérien). Thèse Doctorat. Université. Montpellier II, France, 193 p.
- Depeiges A., Goubely C., Lenoir A., Cocherel S., Picard G., Raynal M., Grellet F., Delseny M. 1995. Identification of the most represented repeat motifs in *Arabidopsis thaliana* microsatellite loci. *Theor. Appl. Genet.* 91:160–168.
- Dikshit H.K., Jhang T., Singh N.K., Koundal K.R., Bansal K.C., Chandra N., Tickoo J.L., Sharma T.R. 2007. Genetic differentiation of *Vigna* species by RAPD, URP and SSR markers. *Biol. Plant.* 51: 451-457.
- Diouf D., Hilu K.W. 2005. Microsatellites and RAPD markers to study genetic relationships among cowpea breeding lines and local varieties in Senegal. *Genet. Resour. Crop Evol.* 52: 1057-1067.
- Djè Y., Heuertz M., Lefèbvre C., Vekemans X. 2000. Assessment of genetic diversity within and among germplasm accessions in cultivated sorghum using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 100: 918–925.
- Doebley J. 1989. Isozymic evidence and the evolution of crop plants. In: *Isoenzymes in plant biology*. Soltis D.E., Soltis P.S (eds). Chapman & Hall. London, England, pp. 165-191.
- Doku. E.V. 1970. Variability in local and exotic varieties of cowpea (*Vigna unguiculata* (L) WALP.) in Ghana. *Ghana J. Agric. Sci.* 3 (2): 139-143.
- Drabo I., Ladeinde T.A.O., Redden R., Smithson J.B., Aggarwal V.D. 1984. Inheritance of seed size in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Euphytica.* 33: 929-934.
- Drabo I., Ladeinde T.A.O., Redden R., Smithson J.B. 1985. Inheritance of seed size and number per pod in cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Field Crops Res.* 11: 335-344.
- Drabo I., Ladeinde T.A.O., Smithson J.B., Redden R. 1988.** Inheritance of Eye Pattern and Seed Coat Colour in Cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) *Plant Breed.* 100: 119-123.

- DSA 2003. Monographie de la wilaya de Tiziouzou. Direction des services agricoles de la wilaya de Tizi-ouzou. 38p.
- Dubief J. 1959. Le climat du Sahara. Mém. Inst. Rech. Sahar., Algérie. 1: 312.
- Dubief J. 1963. Le climat du Sahara. Mém. Inst. Rech. Sahar., Algérie. 2: 275.
- Duke J.A. 1983. Handbook of Energy Crops. http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/vigna_unguiculata.html
- Ebong U.U. 1990. Cowpea production in Nigeria. Nigerian J. of Sci. 2: 67-72.
- Echik N. 2000. Oganisation du pool génique de formes sauvages et cultivées d'une légumineuse alimentaire, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Ph.D. thesis, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Gembloux, Belgium, 307 p.
- Echikh N., Ahmed-Said T., Brac de la Perrière R.A. 1997. Collecting local *Vigna unguiculata* L. (Walp.) landraces in Algeria. Plant Genet. Resour. News. 112: 73-76.
- Edema R., Adipala E. 1996. Effect of crop protection management practice on yield of seven cowpea varieties in Uganda. Int. J. Pest. Manage. 42: 317-320.
- Ehlers J.D., Hall A.E. 1996. Genotypic classification of cowpea based on responses to heat and photoperiod. Crop Sci. 36: 673-679.
- Ehlers J.D., Hall A.E. 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata* L.Walp. Field Crops Res. 53: 187-204.
- Ehlers J.D., Hall A.E. 1998. Heat tolerance of contrasting cowpea lines in short and long days. Field Crops Res. 55: 11–21.
- Eloward H.O.A., Hall A.E. 1987. Influence of early and late nitrogen fertilization on yield and nitrogen fixation of cowpea under well-watered and dry field conditions. Field Crops Res. 15: 229-244.
- Emechebe A.M., Shoyinka S.A. 1985. Fungal and bacterial diseases of cowpeas in Africa In: Cowpea Research, Production and Utilization Singh S.R., Rachie K.O (eds). Wiley, New York, pp.173–197.
- Emechebe A.M., Florini D.A. 1997. Shoot and pod diseases of cowpea induced by fungi and bacteria. In Advances in cowpea research. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai L.E.N(eds.). Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS), pp. 176- 192.
- Fahmy T. 1998. XLSTAT-PRO statistical software. Paris, France.
- Fall L., Diouf D., Fall-Ndiaye M.A., Badiane F.A., Gueye M. 2003. Genetic diversity in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) varieties determined by ARA and RAPD techniques. Afr. J. Biotechnol. 2: 48-50.
- Falque M., Santoni S. 2004. Les Marqueurs moléculaires. In : La Génomique en Biologie Végétale. Morot-Gaudry J.F., Briat J. F (eds). Institut National de la Recherche Agronomique (INRA); Paris, France, pp. 349-375.
- Fang D.Q., Roose M.L. 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. Theor. Appl. Genet. 95: 408-417.
- FAO STAT. 2010. Agricultural production, crop primary database. Food and Agricultural Organisation of the United Nations, Rome. <http://faostat.fao.org/faostat/> .

- Faris D.G. 1963. Evidence for the West African origin of *Vigna sinensis* (L.) Savi. PhD thesis, university of California. 183 p.
- Fatokun C.A., Danesh D., Young N.D., Stewart E.L. 1993. Molecular taxonomic relationships in the genus *Vigna* based on RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.* 86: 97–104.
- Fatokun C.A., Mignouna H.D., Knox M.R., Ellis T.H.N. 1997. AFLP variation among cowpea varieties. In: *Agronomy. Abstracts.* ASA, Madison, WI., pp 156.
- Fernández M.E., Figueiras A.M., Benito C. 2002. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. *Theor. Appl. Genet.* 104: 845–851.
- Fery R.L. 1985. The genetics of cowpea: a review of the world literature. In: *Cowpea research, production and utilization.* Singh S.R., Rachie K.O (eds). New York, Etats-Unis, Wiley, pp. 25-62.
- Fery R.L. 1990. The cowpea: production, utilization, and research in the United States. *Hort. Rev.* 12, 197-222.
- Flowers T.J., Yeo R. 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 875–884.
- Ghalmi N., Hanifi-Mekliche L., Baudoin J.P., Ounane S.M., Benmohamed A. 2005. Caractérisation agro-morphologique de quelques populations locales de niébé (*vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivées en Algérie. In: *Actes du séminaire international sur l'amélioration des productions végétales.* L. Khelifi (ed), INA, Alger, pp. 190-192.
- Ghanem F., O-Outman H. 1998. Contribution à la caractérisation phénologique, biométrique et morphologique. Mémoire d'ingénieur. Institut d'Agronomie. Université de Tizi-Ouzou. 90 p.
- Gillaspie A.G., Hopkins M.S., Dean R.E. 2005. Determining genetic diversity between lines of *Vigna unguiculata* subspecies by AFLP and SSR markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 52: 245–247.
- Godwin I.D., Aitken E.A.B., Smith L.W. 1997. Application of inter-simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis.* 18: 1524–1528.
- Goulao L., Valdivieso T., Santana C., Oliveira C.M. 2001. Comparison between phenetic characterisation using RAPD and ISSR markers and phenotypic data of cultivated chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Genet. Resour. Crop Evol.* 48: 329-338.
- Hall A.E. 2004. Breeding for adaptation to drought and heat in cowpea. *Eur J Agron.* 21: 447–454.
- Hall A.E., Patel P.N. 1985. Breeding of resistance to drought and heat. In: *Cowpea Research. Production and Utilization.* Singh S.R., Rachie K.O (eds). New York, Wiley, pp. 137-151.
- Hall E.A., Frate A.C. 1996. Blackeye Bean Production in California. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 23 p.
- Hall A. E., Cisse N., Thiaw S., Elawadm H.O.A., Ehlers J.D., Ismail A.M., Fery R.L., Roberts P.A., Kitch L.W., Murdock L.L., Boukar O., Phillips R..D., McWatters K.H.

2003. Development of cowpea cultivars and germplasm by Bean/Cowpea CRSP. *Field. Crops. Res.* 82: 103-134.
- Hallden C., Hansen M., Nielson N.O., Hejrdin A., Sall T. 1996. Competition as a source of errors in RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1185-1192.
- Hampton R.O., Thottappilly G., Rossel H.W. 1997. Viral diseases of cowpea and their control by resistance-conferring genes. In *Advances in cowpea research*. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai L.E.N (eds). Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS), pp. 159-175.
- Hanoteau A., Letourneux A. 2003. *La Kabylie et les Coutumes Kabyles*. ed. Bouchène, Paris, 482 p.
- Hardys H., Balick M., Schierwater B. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in *Mol. Ecol.* 1: 55-64.
- Hijmans R.J., Guarino L., Cruz M., Rojas E. 2002. Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1. DIVA-GIS. *Plant Genet. Resour. Newsl.* 127:15-19.
- Homewood K.M. 1993. Livestock economy and ecology in El Kala, Algeria: Evaluating ecological and economic costs and benefits in pastoralist systems. *Pastoral Development Network Paper*, No. 35a. Overseas Development Institute, London, UK. 18 p.
- IBPGR. 1983. *Cowpea descriptors*. International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), Rome, Italy, 34p.
- IITA. 1988. *Genetic Resources Unit Annual Report*. International Institute of Tropical Agriculture (IITA). Ibadan. Nigeria, 50 p.
- INRAA. 2006. *Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques*. Institut National de la Recherche Agronomique Algérie. El Harrach, Algérie, 91 p.
- Iruela M., Rubio J., Cubero J.I., Gil J., Millán T. 2002. Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 104 : 643–651.
- Ishiyaku M.F., Singh B.B., Craufurd P.Q. 2005. Inheritance of time to flowering in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Euphytica* . 142 (3) : 291-300.
- Ismail A.M., Hall A.E. 1999. Reproductive-Stage Heat Tolerance, Leaf Membrane Thermostability and Plant Morphology in Cowpea conductive. *Crop Sci.* 39:1762–1768.
- Ismail A.M., Hall A.E. 2002. Variation in traits associated with chilling tolerance during emergence in cowpea germplasm. *Field Crops Res.* 77 (2-3): 99-113.
- Jackai L.E.N., Daoust R.A. 1986. Insect pests of cowpea. *Annu. Rev. Entomol.* 31: 95-119.
- Jackai L.E.N., Adalla C.B. 1997. Pest management practices in cowpea: A review. In *Advances in cowpea research*. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai L.E.N (eds). Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS), pp. 240-257.

- Jalby V. 2009. Cours d'analyse des données. Analyse factorielle des correspondances multiples (AFCM). Université de Limoges. France. 3p. http://www.unilim.fr/pages_perso/vincent.jalby/m1sm/cours/m1sm_06.pdf.
- Joleaud L. 1936. Etude géologique de la région de Bône et de la Calle. Gouvernement Général de l'Algérie. Bulletin de Service de carte géologique de l'Algérie, 199 p.
- Jones C.J., Edwards K.J., Castaglione S., Winfield M.O., Sala F., Van De Wiel C. 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Mol Breed.* 3: 381–390.
- Krap A., Isaac P.G., Ingram D.S. 1998. Molecular tools for screening biodiversity. Chapman et Hall (eds). London, UK, 498 p.
- Karungi J., Adipala E., Kyamanywa S., Ogenga-Latigo M.W., Oyobo N., Jackai L.E.N. 2000. Pest management in cowpea. Part 1. Influence of time of planting and plant density in the management of field insect pests of cowpeas in eastern Uganda. *Crop. Protection* 19: 237-245.
- Karuppanapandian T., Karuppururai T., Pritam Bala Sinha., Hamarul Haniya A., Manoharan K. 2006. Genetic diversity in green gram [*Vigna radiata* (L.)] landraces analyzed by using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Afr. J. Biotechnol.* 5 (13): 1214-1219.
- Kehinde O.B, Ayo-Vaughan M.A. 1999. Genetic control of seed coat texture in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Tropical Agricultural Research and Extension.* 2 (1): 7-9.
- Kermer A. 1998. Les marqueurs moléculaires en génétique des populations in : Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. De Vienne (ed). Paris, France, INRA, 200 p.
- Kouakou C.K., Roy-Macauley H., Gueye M.C., Otto M.C., Rami J.F., Cissé N., Pasquet R.S. 2007. Genetic diversity of traditional cowpea cultivars (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Senegal: a preliminary study. *Plant. Genet. Resour. Newsl.* 152: 33-44.
- Kumar L.S. 1999. DNA markers in plant improvement: An overview. *Biotechnol. Adv.* 17(2-3): 143-182.
- Kwapata M.B., Hall A.E. 1985. Effects of moisture regime and phosphorus on mycorrhizal infection, nutrient uptake, and growth of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Field Crops Res.* 12: 241-250.
- Ladeinde T.A.O., Bliss F.A. 1977. Identification of the bud stage for pollinating without emasculation in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.)Walp). *Nigerian J. Sci.* 11: 183-194.
- Laghetti G, Padulosi S, Hammer K, Cifarelli S, Perrino P. 1990. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) germplasm collection in southern Italy and preliminary evaluation. In: Cowpea genetic resources; Contributions in cowpea exploration, evaluation and research from Italy and the International Institute of Tropical Agriculture. Ng N.Q., Monti L.M (eds). IITA, Ibadan, Nigeria, pp 46-57.
- Lakhanpaul S., Chadha S., Bhat K.V. 2000. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis in Indian mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) cultivars. *Genetica.* 109: 227–234.

- Lamberti F., Ciancio A., Boiboi J.B., Tuopay D.K., Bleve-Zacheo T., Elia F. 1992. Pathogenicity and reproduction of two species of *Xiphinema* on selected vegetable crops in Liberia. *Nematol. Mediterr.* 20 (1): 113-123.
- Leakey C.L.A. 1988. Genotypic and phenotypic markers in common bean. In: Genetic resources of *Phaseolus bean*. Gepts P (ed) Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 245-327.
- Lefebvre V., Chèvre A.M. 1995. Tools for marking plant disease and resistance genes: a review. *Agronomie.* 15: 3–19.
- Leleji O. 1976. Inheritance of three agronomic characters in cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Euphytica.* 24 : 371-378.
- Leredde C. 1957. Etude écologique et phytogéographique du Tassili N'Ajjer. Mission Scientifique au Tassili, 1949. IRS, Alger.
- Li C.D., Fatokun C.A., Ubi B., Singh B.B., Scoles G.J. 2001. Determining genetic similarities and relationships among cowpea breeding lines and cultivars by microsatellite markers. *Crop Sci.* 41: 189-197.
- Linné C. 1763. *Species plantarum*, ed. 2, 2: 785-1684.
- Liu B., Wendel J.F. 2001. Intersimple sequence repeat (ISSR) polymorphisms as a genetic marker system in cotton. *Mol. Ecol. Notes.* 1: 205-208.
- Lopes F.C., Gomes R.L.F., Filho F.R.F. 2003. Genetic control of cowpea seed sizes. *Sci. agric.* 60(2): 315-318.
- Lush W.M., Evans L.T. 1981. The domestication and improvement of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Euphytica.* 30: 579-587.
- Maas E.V., Hoffman G.J. 1977. Crop salt tolerance-current assessment. *J. of Irrigation and Drainage Division ASCE.* 103: 115–134.
- Maas E.V., Poss J.A. 1989. Salt sensitivity of cowpea at various growth stages. *Irrigation Science.* 10: 313–320.
- Madamba R., Grubben G.J.H., Asante I.K., Akromah R. 2006. *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: PROTA 1: Cereals and pulses/Céréales et légumes secs. Brink, M., Belay G (eds). PROTA, Wageningen, Pays Bas, 327 p.
- Mai-Kodomi Y., Singh B.B., Myers Jr.O., Yopp J.H., Gibson P.J., Terao T. 1999. Two types of drought tolerance in cowpea. *Indian J. Genet.* 59 (3): 309-313.
- Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209-220.
- Maréchal R., Mascherpa J.M., Stainier F. 1978. Etude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique. *Boissiera.* 28: 1-273.
- Marotti I., Bonetti A., Minelli M., Catizone P., Dinelli G. 2007. Characterization of some Italian common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces by RAPD, Semi-random and ISSR molecular markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 54: 175-188.
- Martins L.M.V., Xavier G.R., Rangel F.W., Ribeiro J.R.A., Neves M.C.P., Morgado L. B., Rumjanek N.G. 2003. Contribution of biological fixation to cowpea: a strategy for improving seed yield in the semi-arid region of Brazil. *Biol. Fertil. Soils.* 38: 333-339.

- Massawe F.J., Roberts J.A., Azam-Ali S.N., Daved M.R. 2002. Genetic diversity in bambara groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) landraces assessed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 50: 737–741.
- McGregor C.E., Lambert C.A., Greyling M.M., Louw J.H., Warnich L. 2000. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L) germplasm. *Euphytica.* 113: 135–144.
- Menendez C.M., Hall A.E., Gepts P. 1997. A genetic linkage map of cowpea (*Vigna unguiculata*) developed from a cross between two inbred, domesticated lines. *Theor. Appl. Genet.* 95: 1210-1217.
- Mhiri C., Grandbastien M.A. 2004. Éléments transposables et analyse de la biodiversité végétale. In : *La Génomique en Biologie Végétale*. Morot-Gaudry J.F. & Briat J. F (eds). Institut National de la Recherche Agronomique (INRA); Paris, France, pp. 377-401.
- [Morgante M](#) ., [Olivieri A.M](#) . 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.* 3(1):175-82.
- Muleba N., Ezumah H.C. 1985. Optimizing cultural practices for cowpea in Africa In cowpea: research, production and utilization. Singh S.R., Rachie K.O, (eds), USA, New York, Wiley, pp. 289-295.
- Mulongoy K. 1985. Nitrogen-fixing symbiosis and tropical ecosystems. In: Cowpea research, production and utilization, . Singh S.R., Rachie K.O (eds), Etats-Unis, New York, Wiley, pp.307-315.
- Muthusamy S., Kanagarajan S., Ponnusamy S. 2008. Efficiency of RAPD and ISSR markers system in accessing genetic variation of rice bean (*Vigna umbellata*) landraces. *Electron. J. Biotechnol.* 11(3): 1-10.
- Negri V., Tosti N., Falcinelli M., Veronesi F. 2000. Characterisation of thirteen cowpea landraces from Umbria (Italy). Strategy for their conservation and promotion. *Genet. Resour. Crop Evol.* 47: 141–146.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*70: 3321-3323.
- Ng N.Q., Maréchal R. 1985. Cowpea taxonomy, origin and germplasm. In: Cowpea Genetic Resources. Singh, S.E., Bachie, K.O (eds.). IITA, Ibadan, Nigeria, pp. 11 - 21.
- Ng N.Q., Padulosi S. 1991. Cowpea genepool distribution and crop improvement . in crop genetic resources of Africa Vol II., Ng N.Q., Perrino P., Attere F., Zeden H (eds). IITA,CNR, IBPGR and UNEP. IITA, Ibadan, Nigeria, pp.161-174.
- Ng N.Q. 1995. Cowpea. In : *Evolution of crop plants* (2nd ed.), Smartt J., Simmonds N.W (eds), Londres, Royaume -Uni, Longman, pp. 326-332.
- Nielsen C.L., Hall A.E. 1985. Responses of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in the field to high night air temperature during flowering. I. Thermal regimes of production regions and field experimental system. *Field Crops Res.* 10: 167-179.

- Nielsen S.S., Ohler T.A., Mitchell C.A. 1997. Cowpea leaves for human consumption: production, utilization, and nutrient composition. In: Advances in cowpea research. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai L.E.N (eds), Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agriculture Sciences (JIRCAS), pp 326–332.
- Nkongolo K.K. 2003. Genetic characterization of Malawian cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) landraces: diversity and gene flow among accessions. *Euphytica*. 129: 219–228.
- Nybom H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Mol. Ecol.* 13 (5): 1143-1155.
- Omongo C.A., Adipala E., Ogenga-Latigo M.W., Kyamanywa S. 1998. Insecticide application to reduce pest infestation and damage on cowpeas in Uganda. *Afr. Plant Prot.* 4: 91-100.
- Othman S. A., Singh B.B., Mukhtar F.B. 2006. Studies on the inheritance pattern of joints, pod and flower pigmentation in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) *Afr. J. Biotechnol.* 5 (23): 2371-2376.
- Ouédraogo J.T., Gowda B.S., Jean M., Close T.J., Ehlers J.D., Hall A.E., Gillaspie A.G., Roberts P.A., Ismail A.M., Bruening G., Gepts P., Timko M.P., Belzile F.J. 2002. An improved genetic linkage map for cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Combining AFLP, RFLP, RAPD, biochemical markers, and biological resistance traits. *Genome*. 45: 175-188.
- Ozenda P. 1991. Flore et végétation du Sahara. 3e Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, pp. 39-96.
- Padi F.K. 2003. Genetic Analyses of Pigmentation in Cowpea. *Pak. J. Biol. Sci.* 6 (19): 1655-1659.
- Padulosi S. 1993. Genetic diversity, taxonomy and ecogeographic survey of the wild relatives of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Ph.D. dissertation, Université catholique Louvain- la- Neuve, Belgium, 477 p.
- Padulosi S., Cifarelli S., Monti L., Perrino P. 1987. Cowpea germplasm in southern Italy. *FAO/IBPGR. Plant Genet. Resour. Newsl.* 71: 37.
- Padulosi S., Laghetti G., Pienaar B., Perrino P. 1990. Survey of wild *Vigna* in South Africa. *IBPGR. Plant Genet. Resour. Newsl.* 84: 5-8.
- Padulosi S., Ng N.Q. 1997. Origin, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: Advances in cowpea research. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai L.E.N (eds), Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agriculture Sciences (JIRCAS), pp.1-12.
- Palm R. 1998. L'analyse en composante principale : principes et applications. *Notes de statistique et d'informatique.* 98 (2): 1-32.
- Palm R. 1999. L'analyse de la variance multivariée et l'analyse canonique discriminante : principes et applications. *Notes de statistique et informatique*, Gembloux, Presses Agro, 40p.

- Pandey R.K., Westphal E. 1989. *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: Plant Resources of South-East Asia No 1. Pulses. Van der Maesen L.J.G., Somaatmadja S (eds). Pudoc, Wageningen. Netherlands, pp. 77–81.
- Panella L., Gepts P. 1992. Genetic relationships within *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Based on isozyme analyses. Genet. Resour. Crop Evol. 39: 71- 88.
- Parker C., Riches C.R. 1993. Parasitic weeds of the world: Biology and control. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, pp 111-164.
- Pasquet R.S. 1993a. Classification infraspécifique des formes spontanées de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. à partir de données morphologiques. Bull. Jard. Bot. Nat. Belg. 62 (1/4): 127-173.
- Pasquet R.S. 1993b. Variation at isozyme loci in wild *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (*Fabaceae*, *Phaseoleae*). Plant Syst. Evol. 186: 157–173.
- Pasquet R.S. 1994. Organisation génétique et évolutive des formes spontanées et cultivées du niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. biosystématique et processus de domestication. Ph.D. thesis, Paris Grignon, INA Paris-Grignon-ORSTOM, France, 284 p.
- Pasquet R.S. 1996. Cultivated cowpea (*Vigna unguiculata*) evolution. In : Advances in legume systematics. Legumes of economic importance. Pickersgill B., Lock J.M (eds), Kew, Royaume Uni, Royal Botanic gardens, pp 101-108.
- Pasquet R.S. 1997. A new subspecies of *Vigna unguiculata* (Leguminosae-Papilionoideae). Kew Bull., 52 (4): 838-839.
- Pasquet R.S. 1998. Morphological study of cultivated cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Importance of ovule number and definition of cv gr Melanophthalmus. Agronomie. 18: 61–70.
- Pasquet R.S. 1999. Genetic relationships among subspecies of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Based on allozyme variation. Theor. Appl. Genet. 98:1104-1119.
- Pasquet R.S. 2000. Allozyme diversity of cultivated cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Theor. Appl. Genet. 101: 211–219.
- Pasquet R.S., Fotso M. 1994. Répartition des cultivars de niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., du Cameroun : influence du milieu et des facteurs humains. J. Agric.Trad. Bota. Appl. 36 : 93-143.
- Pasquet R.S., Baudoin J.P. 1997. Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: L'amélioration des plantes tropicales. Charrier A., Jacquot M., Hammon S., Nicolas D. (eds). Cirad-Orstom, Montpellier, France, pp 483-505.
- Pasquet R.S., Baudoin J.P. 2001. Cowpea in Tropical plant breeding. Charrier A., Jacquot M., Harmon S., Nicolas D (eds). Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Montpellier, France, pp. 177-198.
- Peksen E., Artik C., Determination of Genotypical Differences for Leaf Characteristics in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Genotypes. Asian. J. Plant Sci. 4 (2): 95-97.
- Penner G.A., Bush A., Wise R., Kim W., Domier L., Kasha K., Laroche A., Scoles G., Molnar S.J., Fedak G. 1993. Reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. PCR Methods Appl. 2: 341-345.

- Piper C.V. 1912. Agricultural varieties of the cowpea and immediately related species. USDA. Bureau of Plant Industry. Bulletin N° 229. Washington, Government Printing Office: 1-160.
- Pradeep Reddy M., Sarla N., Siddiq E.A. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9–17.
- Prevost A., Wilkinson M.J. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 98: 107–112.
- Purcifull D., Gonsalves D. 1985. Blackeye cowpea mosaic virus. Description of Plant Viruses, no. 305. Mycological Institute and Association of Applied Biologists, Kew, Surrey, UK. 5 p.
- Purseglove J.W. 1976. The origin of migrations of crops in tropical Africa. In *Origins of African plants domestication*. J. Harlan, (ed). Mouton Publishers, The Hague. pp. 291–309.
- Qian W., Ge S., Hong D.Y. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 102: 440-449.
- Quin F.M. 1997. Introduction. In: *Advances in Cowpea Research*. Sing, B.B., Mohan Raj, D.R., Dashiel, K.E. and Jackai, L.E.N (eds). Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadan, Nigeria and Japan International Research Centre for Agricultural Sciences (JIRCAS), pp. ix-xv.
- Rachie K.O. 1985. Introduction In: *Cowpea research production and utilization*. Singh S.R., Rachie K.O (eds). Wiley, New York, pp.xxi – xxviii.
- Raina S.N., Rani V., Kojima T., Ogihara Y., Singh K.P., Devarumath R.M. 2001. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. *Genome.* 44: 763–772.
- Ranade R., Vaidya U.J., Kotwal S.A., Bhagwat A., Gopalakrishna T. 2000. Hybrid seed genotyping and plant varietal identification using DNA markers. In: *DAE-BRNS symposium on the use of nuclear and molecular techniques in crop improvement*, 6–8 December 2000, Mumbai, India. pp 338–345.
- Rawal K.M. 1975. Natural hybridization among wild, weedy and cultivated *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Euphytica.* 24: 699–707.
- Reis C.M., Frederico A.M. 2001. Genetic diversity in cowpea (*Vigna unguiculata*) using isozyme electrophoresis. *Acta Hort.* 1, 546: 497 – 501. International Symposium on Molecular Markers for Characterizing Genotypes and Identifying Cultivars in Horticulture.
- Rieseberg L.R., Ellstrand N.E. 1993. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization. *Crit. Rev. Plant Sci.* 12: 213-241.
- Roberts P.A., Ismail A.M., Bruening G., Gepts P., Timko M.P., Belzile F.J. 2002. An improved genetic linkage map for cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Combining AFLP, RFLP, RAPD, biochemical markers, and biological resistance traits. *Genome.* 45: 175–188.

- Rosenberg M.S. 2001. Passage. Pattern Analysis, Spatial Statistics, and Geographic Exegesis. Version 1.1. Department of Biology, Arizona State University, Tempe, AZ.
- Rusoke D.G., Rubaihayo P.R. 1994. The influence of some crop protection management practices on yield stability of cowpeas. *Afr Crop Sci J.* 2:43-48.
- Sabiti A.G., Nsubuga E.N.B., Adipala E., Ngambeki D.S. 1994. Socioeconomic aspects of cowpea production in Uganda: A rapid rural Appraisal. *Uganda Journal of Agricultural Science.* 2: 59-99.
- Sales M.P., Gerhardt I.R., Grossi-de-Sá M.F., Xavier-Filho J. 2000. Do legume storage proteins play a role in defending seeds against bruchids?. *Plant Physiol.* 124: 515–522.
- Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E., Prat D. 2000. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers d'études et de recherches francophones/ Agricultures.* 9: 311-327.
- Sarutayophat T., Nualsri C., Santiprachha Q., Saereprasert V. 2007. Characterization and genetic relatedness among 37 yardlong bean and cowpea accessions based on morphological characters and RAPD analysis. *Songklanakarin. J. Sci. Technol.* (29) 3: 591-600.
- SAS 8 for WIndows. 2001. Analyse statistique. Software for PC, SAS Institute Inc.
- Saunders A. R. 1959. Inheritance in the cowpea (*Vigna smensis* L.). Colour of the seed coat. *S. Afr. J. Agric. Sci.* 2 (3): 285-307.
- Saunders A.R. 1960. Inheritance in the cowpea (*Vigna smensis* Endl.). Seed coat colour pattern, flower, plant and pod colour. *S. Afr. J. Agric. Sci.* 3 (2):141-162.
- Schneider S., Roessli D., Excoffier L. 2000. Arlequin ver 2.000 ; a software for population genetics data analysis. Genetics and biometry laboratory, Dept of Anthropology and ecology, University of Geneva, Suisse.
- Seltzer P. 1946. Le climat de l'Algérie. Université. Alger, ed, IMPG Carbonnel, Alger.
- Sène D. 1967. Déterminisme génétique de la précocité chez *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Agron. trop.* 22-3 : 309-318.
- Sharawy W.M., El Filky Z.A. 2002. Characterization of cowpea (*Vigna Unguiculata* L.) genotypes based on yield traits and RAPD-PCR analyses. *Arab. J. Biotechnol. ACGSSR.* 6 (1): 67-78.
- Singh S.P., Nodari R., Gepts P. 1991. Genetic diversity in cultivated common bean. *Allozymes. Crop Sci.* 31: 19-23.
- Singh B.B. 2002. Recent genetic studies in cowpea. In: Challenges and opportunities for Enhancing Sustainable Cowpea Production. Fatokun C.A., Tarawali S.A., Singh B.B., Kormawa P.M., Tamo M. (eds). IITA, Ibadan, Nigeria, pp. 3-13.
- Singh B.B. 2005. Cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement. Singh R.J., Jauhar P.P. (eds). Boca Raton , CRC Press, Florida, USA, pp. 117-162.
- Singh B.B., Chambliss O.L., Sharma B. 1997. Recent advances in cowpea breeding. . In: Advances in cowpea research. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai

- L.E.N (eds), Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agriculture Sciences (JIRCAS), pp. 30-49.
- Singh B.B., Tarawali S.A. 1997. Cowpea and its improvement: key to sustainable mixed crop/livestock farming systems in West Africa. In: Crop Residues in Sustainable Mixed Crop/Livestock Farming Systems. Renard C (ed). CAB in Association with ICRISAT and ILRI, Wallingford, UK, pp 79–100.
- Singh B.B., Ishiaku M.F. 2000. Genetics of rough seed coat texture in cowpea. J. Hered. 91: 170-174.
- Singh B.B., Ajeigbe H.A. 2001. Breeding improved cowpea varieties for different cropping systems and Agro-ecologies in West Africa. African Crop Science Conference Proceedings. 5: 35-41.
- Singh S., Reddy K.S., Jawali N. 2000. PCR analysis of mungbean genotypes using anchored simple sequence repeat primers. In: DAE-BRNS symposium on the use of nuclear and molecular techniques in crop Improvement. BARC, Mumbai, India. pp. 359–369.
- Smith H.S.C., Smith O.S. 1989. The description and assessment of distance between inbred lines of maize. II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. Maydica 34, 151-161.
- Sonnante G., Piergiovanni A.R, Ng Q.N., Perriro P. 1996. Relationships of *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *Vexillata* (L.). A. Rich., and species of section *Vigna* based on isozyme variation. Genet. Resour. Crop Evol. 43: 157-165.
- Souframanien J., Gopalakrishna T. 2004. A comparative analysis of genetic diversity in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers. Theor. Appl. Genet. 109: 1687-93.
- Spooner D., Van Treuren R., De Vicente M.C. 2005. Molecular markers for genebank management. IPGRI technical bulletin n° 10. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 125p.
- Staub J.E., Serquen F.C. 1996. Genetic markers, map construction and their application in plant breeding. HortScience. 31: 729-741.
- Steele W.M. 1972. Cowpeas in Nigeria. Ph. D. Thesis. University of Reading, UK.
- Steele W.M. 1976. Cowpeas, *Vigna unguiculata* (*Leguminosae-Papilionatae*). In: Evolution of crop plants. Simmonds NW (ed). Longmans, London, pp 183-185.
- Summerfield R.J., Pate J.S., Roberts E.H., Wien H.C. 1985. The physiology of cowpeas. In: Cowpea research, production and utilization. Singh S.R., Rachie K.O (eds). Wiley, New York, pp 65-101.
- Tanksley S.D., Orton T.J. 1983. Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A (Developments in Plant Genetics & Breeding). Elsevier Science Ltd (ed). 526 p.
- Tarawali S.A., Singh B.B., Peters M., Blade, S.F., 1997. Cowpea haulms as fodder. In: Advances in Cowpea Research. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K., Jackai L.E.N (Eds.), Copublication of International Institute of Tropical Agricultural Sciences and the JIRCAS, IITA, Ibadan, Nigeria, pp. 313–325.

- Timko M.P., Ehlers J.D., Roberts P.A. 2007. Cowpea. In: Pulses, Sugar and Tuber Crops, Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Vol. 3, Kole C. (Ed.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 49-67.
- Tosti N., Negri V. 2002. Efficiency of three PCR-based markers in assessing genetic variation among cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) landraces. *Genome*. 45: 268-275.
- Trabut A. 1935. Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées cultivées et utilisées dans le nord de l'Afrique. Alger, Algeria, 355 p.
- Tradieu M., Sène D. 1966. Le haricot niébé (*Vigna unguiculata* Walpers) au Sénégal. *Agro. Trop.* 21 (8): 918-926.
- Uguru M., Uzo J.O. 1991. Segregation pattern of Decumbence, Climbing and Bushy growth habits in *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Plant Breed.* 107: 173-176.
- Uguru M. 1996. A note on the Nigerian vegetable cowpea. *Genet. Resour. Crop Evol.* 43: 125-128.
- Uguru M. 1998. Traditional conservation of vegetable cowpea in Nigeria. *Genet. Resour. Crop Evol.* 45: 135-138.
- Vaillancourt R.E., Weeden N.F. 1992. Chloroplast DNA polymorphism suggests Nigerian center of domestication for the cowpea, *Vigna unguiculata* (*Leguminosae*). *Am J Bot* 79:1194-1199.
- Vaillancourt R.E., Weeden N.F., Barnard J. 1993. Isozyme diversity in the cowpea species complex. *Crop Sci.* 33: 606-613.
- Van de Peer Y., de Wachter Y. 1994. TREECON for Windows: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft environment. *Comput. Appl. Biosci.* 10: 569-570.
- Vanderborght T., Baudoin J.P. 2001. Cowpea. In: *Crop production in tropical Africa*. Raemaekers, R.H (ed). DGIC (Directorate General for International Co-operation), Ministry of Foreign Affairs, External Trade and International Co-operation, Brussels, Belgium, pp. 334-348.
- Verdcourt B. 1970. Studies in the Leguminosae-Papilionoideae for the flora of tropical east Africa. IV. *Kew Bull.* 24: 507-569.
- Vodenicharova M. 1989. Use of proteins as molecular-genetic markers in plants. *Genet Sel.* 22: 269-277.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van De Lee T., Hornes M. 1995. AFLP: a new technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-14.
- Warrag M.O.A., Hall A.E. 1984. Reproductive responses of cowpea to heat stress: II. Responses to night air temperature. *Field Crops Res.* 8: 17-33.
- Watanabe I., Hakoyama S., Terao T., Singh B.B. 1997. Evaluation methods for drought tolerance in cowpea. In: *Advances in cowpea research*. Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E., Jackai L.E.N (eds), Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agriculture Sciences (JIRCAS), pp.141-146.

- Weber J. L., May P.E. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 388-96.
- Welsh J., McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18: 7213-7218.
- Westphal E. 1974. Pulses in Ethiopia: their taxonomy and agriculture significance. Agricultural Research Report 815. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, Netherlands.
- Williams J.G., Kubelik A.R., Livak J., Rafalski J.A., Tingey S.V. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.
- Wilson C., Liu X.; Lesch S.M., Suarez L. 2006. Growth response of major U.S. cowpea cultivars. I. Biomass accumulation and salt tolerance. *HortScience.* 41 (1): 225-230.
- Xue-Jun G., Yan Y., Yong-Ming Y., Hong-Wen H., Cheng Y. 2005. Genetic Diversity and Geographic Differentiation in Endangered *Ammopiptanthus* (Leguminosae) Populations in Desert Regions of Northwest China as Revealed by ISSR Analysis. *Ann. Bot.* 95: 843–851.
- Yahaya M. 2007. Inheritance of flower colour in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Int. J. Pure. Appl. Sci.* 1(1): 10-19.
- Zannou A., . Kossou D.K., Ahanchédé A., Zoundjihékpon J., Agbicodo E., Struik P.C., Sanni A. 2008. Genetic variability of cultivated cowpea in Benin assessed by random amplified polymorphic DNA. *Afr. J. Biotechnol.* 7 (24): 4407-4414.
- Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics.* 20: 176–183.
- Ziza F.Z. 2006. Évolution de la salinité des sols irrigués dans une région saharienne. Thèse Magister en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique, El Harrach, Alger, 115 p.

ANNEXES

ANNEXE 1-A : QUESTIONNAIRE DE L'ENQUÊTE (ASPECTS ETHNOBOTANIQUES) RÉALISÉE SUR LA CULTURE DU NIÉBÉ EN ALGÉRIE

Questions	Informations ethnobotaniques
Question 1 : Régions (Reg)	Kabylie (1), Tidikelt (2), Djanet (3)
Question 2: Âge (Âge)	Moins de 45 ans (1), 45- 65 ans (2) plus de 65 ans
Question 3: Sexe (Sexe)	Feminin (1), Masculin (0)
Question 4: Nom vernaculaire (Nov)	<i>Loubia kabyle</i> (1), <i>Tadelaght</i> (2)
Question 5 : Source des graines (Sog)	Jardin (1), Voisin ou famille (2), Marché (3)
Question 6 : Parties utilisées de la plante (Put)	Graines (1), Graines+ gousses vertes (2), Graines +gousses vertes+fanés (3)
Question 7: Depuis quand la plante est cultivée? (Dqc)	Depuis quelques années (1), Depuis longtemps (2)
Question 8 : Destination (Des)	Autoconsommation (1), Commercialisation (2), Autoconsommation et Commercialisation (3)
Question 9 : Plats principales à base de niébé (Pbn)	Couscous (1), Tewasse (2)
Question 10 : Provenance géographique (Pgeo)	Non connu (0), Niger (1), Soudan (2), Arabie Saoudite (3)
Question 11 : Pourquoi la plante est tjrs cultivée? (Pmt)	Fins alimentaires (1), Conservation (2), Facilité de sa culture (3), Qualité gustative (4), Fins alimentaires et conservation (5)
Question 12 : Est-ce que vous cultiverez toujours cette plante? (Ctjr)	Non (0), Oui (1)
Question 13 : Est ce que vous pensez que cette plante va disparaître? (Pdis)	Non (0), Oui (0)
Question 14 : Plats secondaires à base de niébé (Psbm)	Berkoukés (1), Asbane (2), Djouaz (3)

ANNEXE 1-B : QUESTIONNAIRE DE L'ENQUÊTE (ASPECTS AGRONOMIQUES) RÉALISÉE SUR LA CULTURE DU NIÉBÉ EN ALGÉRIE

Questions	Informations ethnobotaniques
<i>Question 1</i> : Élevage (Tye)	Absence (0), Présence (1)
<i>Question 2</i> : nombre de coupe (Ncp)	Aucune (0), Un à deux (1), Plus de deux (2)
<i>Question 3</i> : Époque de semis (Es)	Février- Mars (1), Avril-Mai (2), Juin (3)
<i>Question 4</i> : Époque de floraison (Ef)	Un mois après le semis (1), Un mois et demi à deux mois après le semis (2), Plus de 2 mois après le semis (3)
<i>Question 5</i> : Époque de récolte (Er)	Juin- Septembre (1), Juillet-Octobre (2)
<i>Question 6</i> : Espèces cultivées en même moment (autres spéculations) (Asp)	Cultures Potagères (1), Cultures potagère + Figuiers + Oliviers (2), Palmier Dattier + Autres Cultures (3)
<i>Question 7</i> : Disponibilité de l'eau (De)	Non (0), Oui (1)
<i>Question 8</i> : mode d'irrigation (Mir)	Raie (1), Aspersion (2)
<i>Question 9</i> : Fertilisation (Fer)	Non (0), Oui (1)
<i>Question 10</i> : Présence de nodules sur les racines (Pno)	Non (0), Oui (1)
<i>Question 11</i> : Maladies et ennemis durant la culture (Menn)	Aucune (0), Insectes (1), Champignons + Insectes (2)
<i>Question 12</i> : utilisation des produits phytosanitaires (Uph)	Non (0), Oui (1)
<i>Question 13</i> : maladies et ennemis lors du stockage (Mens)	Aucune (0), Bruches (1)
<i>Question 14</i> : méthode de lutte lors du stockage (Mlu)	Aucune (0), Huile d'olive (1), Piment (2), Froid (3), Soleil (4), Chimique (5)

ANNEXE 2 : CARACTÈRES QUANTITATIFS DES 28 ÉCOTYPES LOCAUX DE NIÉBÉ ÉTUDIÉS

Etude de la diversité génétique de quelques écotypes locaux de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Cultivés en Algérie

Caractères	Date de floraison (jours)	Date de maturité (jours)	Nombre de graines par gousses	Nombre d'ovules par gousses	Poids de cent graines (g)	Longueur de la gousses	Longueur de la graine	Nombre de plants fleuris
NE5	46-48 jours	75-77 jours	11-14	11-14	17,49-20,41 g	16,5-21 cm	0,90-1,06 cm	100
NE8	46-48 jours	76-77 jours	11-14	11-14	13,17-17,0 g	12,5-17 cm	0,68-0,88 cm	100
NE10	50-54 jours	76-78 jours	10-14	11-14	10,28-12,63 g	10,5-14,5 cm	0,66-0,84 cm	100
NE11	50-52 jours	76-77 jours	11-13	11-14	11,35-13,37 g	13-16,5 cm	0,72-0,88 cm	100
NE4	47-49 jours	76-77 jours	11-14	11-14	11,04-12,89 g	12-15 cm	0,70-0,88 cm	100
NKT3	50-54 jours	76-77 jours	11-14	11-14	17,34-23,02 g	13-18 cm	0,98-1,14 cm	100
NKT7	47-50 jours	76-77 jours	9-14	9-14	16,07-25,95 g	15-26 cm	0,94-1,45 cm	100
NKT4	48-50 jours	76-79 jours	10-16	11-16	12,57-16,57 g	14-17 cm	0,74-0,96 cm	100
NKT5	52-56 jours	76-79 jours	11-15	11-15	10,12-12,91 g	13-19,5 cm	0,74-0,96 cm	100
NKB7	56-58 jours	84-86 jours	11-16	11-16	9,02-11,98 g	18-26 cm	0,80-0,98 cm	100
NAG11	64-73 jours	81-95 jours	9-12	10-12	7,29-10,48 g	10-12,5 cm	0,60-0,76 cm	100
NAG4	77-79 jours	90-104 jours	9-11	9-12	7,19-10,56 g	9-12,5 cm	0,64-0,76 cm	100
NAT4	108-110	120-125	9-12	10-12	8,93 g	9,5-12,5 cm	0,66-0,78 cm	20
NAG5	55-64 jours	79-85 jours	7-9	8-11	7,05-10,25 g	8,5-12,5 cm	0,58-0,78 cm	33,33
NAT9	pas de floraison	-	-	-	-	-	-	0
NAT5	108-110	120-122	8-9	9-10	6,16-7,01 g	9-11 cm	0,72-0,76 cm	100
NAT2	80-82 jours	94-109 jours	9-12	9-13	7,21-10,61 g	9-12 cm	0,58-0,74 cm	100
NAG6	48-49 jours	75-77 jours	9-12	9-12	7,86-10,37 g	9-13 cm	0,60-0,74 cm	100
NG7	57-58 jours	76-77 jours	12-16	12-16	12,69-15,69 g	13-18 cm	0,70-0,90 cm	100
NAG3	pas de floraison	-	-	-	-	-	-	0
NAG2	91-97 jours	100-104 jours	9-11	9-12	6,94-9,87 g	9-12 cm	0,62-0,73 cm	100
NB16	49-62 jours	75-89 jours	9-13	10-13	7,30-10,78 g	10-14 cm	0,64-0,76 cm	100
NB12	50-52 jours	77-79 jours	9-14	9-14	8,56-10,37 g	10-14 cm	0,60-0,74 cm	100
NB18	51-54 jours	74-79 jours	9-12	9-12	8,26-9,94 g	10-13,5 cm	0,63-0,78 cm	100
ND3	pas de floraison	-	-	-	-	-	-	0
ND7	96-102 jours	104-113 jours	8-11	9-11	10,89-11,02 g	10-12,5	0,64-0,73 cm	13,33
ND4	89-92 jours	102-113 jours	8-11	9-11	8,73-9,81 g	9-12,5 cm	0,70-0,76 cm	66,66

ANNEXE 3-A : CARACTÈRES QUALITATIFS DES ÉCOTYPES DU NIÉBÉ ORIGINAIRES DU NORD DE L'ALGÉRIE

Écotypes	Abondance Végétation	Marque Foliaire	Forme Foliole	Habitus Croissance	Couleur Fleur	Tache Blanche	Tache Jaune	Tache Violette	Pigmentation	Forme Graine	Texture Graine	Couleur Graine	Couleur Œil
NE5	abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	blanche	forte	confluents à la base	nulle à faible	absence	rétriforme	lisse à rugueuse	crème	brun
NE8	abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	mauve-rose	forte	confluents à la base	moyenne	absence	ovoté	lisse à rugueuse	crème	brun large
NE10	abondante	longitudinale	ovale	grimpart-rampant	violette	moyenne	lobes médiane	forte large	absence	ovoté	lisse	beige brune	absent
NE11	abondante	v renversé	lancéolé	semi-rampant	violette	moyenne	lobes séparés	forte large	présence	rhomboté	lisse	noire	absent
NE4	abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	blanche	forte	confluents à la base	nulle à faible	présence	rétriforme	lisse à rugueuse	crème	noir
NKT3	abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	blanche	forte	confluents à la base	nulle à faible	présence	rétriforme	rugueuse à ridée	crème	noir
NKT7	abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	blanche	forte	confluents à la base	nulle à faible	présence	rétriforme	ridée	crème	noir
NKT4	abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	mauve-rose	forte	confluents à la base	moyenne	absence	ovoté	lisse à rugueuse	crème	brun large
NKT5	abondante	v renversé	lancéolé	érigé-grimpart	violette	moyenne	lobes séparés	forte large	présence	rhomboté	lisse	noire	absent
NKB7	abondante	longitudinale	ovale	semi-rampant	blanche	forte	confluents à la base	nulle à faible	présence	rétriforme	lisse	holstein	absent

ANNEXE 3-B : CARACTÈRES QUALITATIFS DES ÉCOTYPES DU NIÉBÉ ORIGINAIRES DES OASIS DU SAHARA

Écotypes	Abondance Végétation	Marque Foliaire	Forme Foliole	Habitus Croissance	Couleur Fleurs	Tache Blanche	Tache Jaune	Tache Violettes	Pigmentation	Forme Graine	Texture Graine	Couleur Graine	Couleur Cili
NAG11	peu abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	blanche	forte	confluents à la base	nulle à faible	présence	rhombotale	lisse à rugueuse	crème	noir
NAG4	peu abondante	longitudinale	ovale	semi-érigé	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	présence	ovotale	lisse	noir	absent
NAT4	très peu abondante	longitudinale	ovale	semi-érigé	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	présence	ovotale	lisse	noir	absent
NAG5	peu abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	blanche	forte	confluents à la base	nulle à faible	présence	rhombotale	lisse à rugueuse	crème	noir
NAT9	abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	-	-	-	-	-	rhombotale	rugueuse à ridée	crème	noir
NAT5	très peu abondante	longitudinale	lancéolé	semi-érigé	violette	moyenne	lobe médiane	forte à large	absence	ovotale	lisse	brune	absent
NAT2	très peu abondante	longitudinale	lancéolé	semi-rampant	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	absence	ovotale	lisse	beige-brune	absent
NAG6	Peu abondante	longitudinale	lancéolé	érigé-rampant	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	absence	ovotale	lisse	brune-olive	absent
NG7	très abondante	v renversé	lancéolé	semi-rampant	violette	moyenne	lobes séparés	forte large	absence	rhombotale	lisse	brune-olive	absent
NAG3	très peu abondante	longitudinale	lancéolé	-	-	-	-	-	-	ovotale	lisse	noir	absent
NAG2	très peu abondante	longitudinale	lancéolé	semi-érigé	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	absence	rhombotale	lisse	beige-brune	absent
NB16	peu abondante	longitudinale	ovale	semi-érigé	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	absence	ovotale	lisse	beige-brune	absent
NB12	peu abondante	longitudinale	ovale	érigé-grimpant	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	absence	rhombotale	lisse	beige-brune	absent
NB18	peu abondante	longitudinale	ovale	érigé-grimpant	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	absence	rhombotale	lisse	beige-brune	absent
ND3	très abondante	v renversé	lancéolé	-	-	-	-	-	-	rétriforme	lisse	blanche	absent
ND7	très abondante	v renversé	ovale	semi-rampant	violette	moyenne	lobes séparés	forte large	absence	arrondée	lisse	rouge	absent
ND4	peu abondante	v renversé	ovale	semi-érigé	violette	moyenne	lobe médiane	forte large	absence	rhombotale	lisse	brune-ocre	absent
ND6	très abondante	v renversé	lancéolé	semi-érigé	violette	moyenne	lobes séparés	forte large	absence	rétriforme	lisse	brune-olive	absent

ANNEXE 4-A : COMPOSITION DU TAMPON TAE 50X

242 gr de Tris

18,6 gr d'EDTA

57,1 ml d'acide acétique pur

Le tout est dilué dans 1litre d'eau distillée tamponnée à pH 8,5 et autoclavé.

ANNEXE 4-B : COMPOSITION DU TAMPON TBE 1X

Pour la préparation d'un tampon TBE (1x) pH 8,0 peser :

10,78 gr de Tris

5,50 gr Acide borique

0,58 gr EDTA Disodium salt

Le tout est dilué dans 1litre d'eau distillée tamponnée à pH 8,0 et autoclavé.

Pour une concentration 10x, multiplier les quantités par 10.