

Contribution des ressources phylogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales

Jean-Pierre Baudoin

Unité de Phytotechnie tropicale et d'Horticulture. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Passage des Déportés, 2. B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail : baudoin.jp@fsagx.ac.be

Reçu le 18 avril 2001, accepté le 25 octobre 2001.

Grâce à leur teneur élevée en protéines dans la graine séchée et à leur capacité de fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, les légumineuses alimentaires sont une composante essentielle des systèmes culturaux sous les tropiques. Malheureusement ces plantes se caractérisent très souvent par des rendements faibles et instables. Cela s'explique, en particulier, par leur sensibilité aux maladies, ravageurs et autres contraintes abiotiques (froid, chaleur, sols pauvres, etc.). Pour surmonter ces obstacles, l'amélioration génétique des légumineuses doit être envisagée au départ de collections variétales très larges, englobant des formes sauvages et cultivées de l'espèce étudiée ou des espèces apparentées. L'analyse de l'organisation génétique de ces collections, ainsi que leur caractérisation et évaluation agronomique constituent des étapes essentielles pour l'orientation des travaux de sélection variétale. La présente étude synthétise les résultats obtenus par notre laboratoire chez plusieurs espèces cultivées, principalement des genres *Phaseolus* et *Vigna*, secondairement du genre *Cajanus*.

Mots-clés. Légumineuses alimentaires, ressources phylogénétiques, sélection variétale, *Vigna unguiculata*, niébé, *Cajanus cajan*, pois cajan, *Phaseolus*, haricot.

Contribution of plant genetic resources to varietal selection of tropical food legumes. Thanks to their high content of proteins in the dry seeds and to their ability to fix symbiotically the air nitrogen, the food legumes are a key component of the cultural systems in the tropics. Unfortunately these plants are very often characterized by their low and unstable yields. This is explained, in particular, by their susceptibility to diseases, pests and other abiotic constraints (cold, heat, poor soils, etc.). In order to overcome these obstacles, the genetic improvement of food legumes must be undertaken on the basis of very large varietal collections, including wild and cultivated forms of the studied species or other related species. The analysis of the genetic organization of these collections, as well as their characterization and agronomic evaluation constitute essential steps, guiding the works of varietal selection. The present study synthesizes the results obtained by our laboratory in several cultivated species, mainly in the genera *Phaseolus* and *Vigna*, secondarily in the genus *Cajanus*.

Keywords. Food legumes, plant genetic resources, plant breeding, *Vigna unguiculata*, cowpea, *Cajanus cajan*, pigeonpea, *Phaseolus*, bean.

1. INTRODUCTION

Dans de nombreuses régions tropicales, les systèmes culturaux se caractérisent par des niveaux de productivité insuffisants pour atteindre les objectifs de sécurité alimentaire. Les travaux de recherche agronomique réalisés dans le passé ont souvent négligé les cultures vivrières au profit des cultures industrielles. Pour remédier à ces insuffisances, plusieurs centres internationaux de recherche ont été créés à travers divers pays d'Afrique, d'Amérique latine et d'Asie. Leurs activités sont coordonnées et supervisées par le Groupe Consultatif de la Recherche Agronomique Internationale (GCRAI), placé sous les auspices de la FAO, du PNUD et de la Banque Mondiale.

L'objectif principal du GCRAI est d'améliorer la productivité des plantes vivrières et des systèmes de productions dans lesquels elles s'intègrent. Parmi toutes les espèces étudiées, les légumineuses alimentaires occupent une part très importante des travaux accomplis dans des domaines aussi divers que la phytotechnie, la génétique, l'entomologie, la phytopathologie, la physiologie, la nutrition et la sélection variétale. Elles constituent un apport important et peu coûteux en protéines (18 à 30 % de la graine sèche). Elles exercent une influence très favorable sur la fertilité des sols grâce à la symbiose fixatrice d'azote avec des souches bactériennes du genre *Rhizobium*. Elles jouent par conséquent un rôle primordial dans la rotation des cultures. Si leurs excellentes propriétés suscitent de nombreux espoirs, il convient pourtant de ne pas sous-

estimer les difficultés inhérentes à ce groupe de plantes. En effet, les légumineuses vivrières occupent toujours une place très modeste dans les systèmes culturaux traditionnels des régions tropicales. Le niveau faible et instable de leurs rendements par unité d'effort et leur grande sensibilité aux maladies et ravageurs expliquent partiellement ce déséquilibre.

Une priorité absolue doit donc être accordée à l'amélioration du rendement, de la rusticité et de l'adaptabilité des légumineuses alimentaires. Cependant, de telles recherches ne peuvent négliger les systèmes culturaux : les cultures traditionnelles dans les régions tropicales ne permettent pas toujours à la plante d'exprimer son potentiel réel de production et cette situation nécessite en conséquence le développement d'une phytotechnie plus performante en culture pure ou associée. Les légumineuses devront obligatoirement s'adapter à ces nouveaux milieux, lesquels entraîneront inévitablement des obstacles supplémentaires à l'obtention d'une bonne productivité : pour ne citer qu'un exemple, l'intensification d'un système cultural s'accompagne très souvent d'une incidence plus sévère des maladies et des ravageurs, requérant des niveaux élevés et stables de résistance génétique.

2. ESPÈCES CIBLÉES ET MÉTHODE DE TRAVAIL

Pour faire face à tous ces défis, le sélectionneur veillera en premier lieu à choisir l'espèce ou la variété cultivée qui convienne le mieux aux conditions écologiques locales. Celles-ci sont extrêmement diverses sous les tropiques, couvrant les zones les plus arides aux plus humides et les zones les plus chaudes aux plus froides. Dans ce contexte, il est essentiel d'exploiter toute la diversité génétique disponible au sein de cette famille végétale et de ne pas négliger des espèces dont la diffusion dans le monde est plus limitée.

Dans le cadre de collaborations avec des organismes nationaux ou internationaux situés en Afrique (Burundi, Kenya, Nigeria et Ouganda) et en Amérique du Sud (Brésil, Colombie et Pérou), notre laboratoire a conduit des travaux sur l'amélioration génétique des légumineuses alimentaires appartenant à trois genres :

- *Phaseolus lunatus* L. (haricot de Lima) pour la côte désertique du Pérou et les savanes atlantiques de Colombie ;
- *Phaseolus vulgaris* L. (haricot commun) pour les régions de moyennes altitudes (1500 à 2200 m) des Andes et de l'Afrique orientale ;
- *Phaseolus coccineus* L. (haricot d'Espagne) et *Phaseolus polyanthus* GREENMAN pour les régions de hautes altitudes (2200 à 3500 m) des Andes ;

- *Vigna unguiculata* (L.) WALPERS (niébé) pour les savanes de basses altitudes de l'Afrique occidentale et orientale ;
- *Cajanus cajan* (L.) MILLSPAUGH (pois cajan) pour les régions semi-arides de l'Afrique orientale.

Ces recherches se basent sur l'exploitation des ressources génétiques disponibles aux niveaux intra- et interspécifiques. La constitution d'une collection variétale représentative constitue dès lors un préalable indispensable à la poursuite des recherches en sélection variétale. Avec la participation des centres internationaux de recherche agronomique et des collecteurs et botanistes du monde entier, la priorité a été accordée à l'accumulation de formes et espèces sauvages, phylétiquement proches ou distantes des légumineuses domestiquées.

La méthodologie de travail s'articule autour de quatre axes majeurs :

- la prospection de matériel végétal dans les centres de diversité et la constitution de collections de base caractérisées par un spectre génétique très large ;
- l'évaluation de ces collections pour de nombreux traits morphologiques, agronomiques, biochimiques et moléculaires ;
- l'hybridation et la sélection suivant des techniques classiques et nouvelles (cultures tissulaires et sélection assistée par marqueurs) ;
- la mise en place d'essais de rendement et d'adaptation multi-régionaux, en stations expérimentales et en milieu réel (c'est-à-dire la petite exploitation paysanne).

3. PROSPECTION ET CONSTITUTION DE COLLECTIONS DE BASE

Pour obtenir des cultivars améliorés, à la fois productifs et stables, le sélectionneur doit avoir à sa disposition la plus grande diversité génétique possible de la légumineuse étudiée. Selon le concept de Harlan et De Wet (1971), les sources de variabilité exploitables englobent non seulement les formes sauvages, spontanées et cultivées de l'espèce au sens biologique (c'est-à-dire le réservoir génétique primaire) mais également toutes les autres espèces phylétiquement voisines dans le genre et pouvant s'hybrider avec l'espèce concernée (c'est-à-dire le réservoir génétique secondaire ou tertiaire selon la sévérité des barrières d'incompatibilité interspécifiques). Depuis 1965, sous l'initiative des professeurs G. Le Marchand et R. Maréchal, notre laboratoire s'est particulièrement investi dans la collecte et l'analyse des réservoirs génétiques des formes sauvages et espèces apparentées aux cultigènes des deux genres *Phaseolus* et *Vigna*.

Ces deux genres appartiennent à la sous-tribu des *Phaseolinae*, à la tribu des *Phaseoleae*, à la famille des *Papilionaceae* (ou *Fabaceae*) et à l'ordre des *Légu-minosales* (ou *Fabales*). Plus récemment, en 1997, notre laboratoire s'est aussi intéressé aux réservoirs génétiques que constituent les variétés cultivées traditionnelles du pois cajan en Afrique de l'Est. Le pois cajan est le seul cultigène du genre *Cajanus*, de la sous-tribu des *Cajaninae*, appartenant également à la tribu des *Phaseoleae*.

L'Afrique et l'Asie représentent les aires d'origine, de domestication et de diversité des cultigènes du genre *Vigna* (Maréchal *et al.*, 1978). En particulier, les formes sauvages et cultivées du niébé *V. unguiculata* sont réparties dans toute l'Afrique, depuis la lisière méridionale du Sahara jusqu'en Afrique australe. Des données, tant moléculaires qu'ethnobotaniques, laisseraient supposer que les premières formes domestiquées du niébé seraient apparues dans le nord-est de l'Afrique. Cette hypothèse prévaudrait également pour deux autres espèces, le sorgho et le mil, qui ont accompagné le niébé dans sa diffusion à travers le continent africain. Toutefois, le manque de matériel végétal spontané en provenance du nord-est de l'Afrique ne permet pas encore de confirmer cette hypothèse (Pasquet, Baudoin, 1997 ; Pasquet *et al.*, 1997).

Le Nouveau Monde constitue l'aire d'origine et de domestication du genre *Phaseolus* et se caractérise, selon Debouck (1986, 2000), par trois centres de diversité primaire : le centre mésoaméricain (du sud des États-Unis à l'ouest de Panama), le centre nord-andin (de l'ouest du Venezuela au nord du Pérou) et le centre sud-andin (du centre du Pérou au nord de l'Argentine). À partir de ces trois centres, les espèces qui ont fait l'objet d'une domestication ont suivi plusieurs voies de diversification qui ont contribué non seulement à élargir leur variabilité génétique mais aussi à accroître considérablement leur adaptabilité à des zones climatiques très différentes. Cette adaptabilité a facilité la dispersion des plantes en dehors du continent américain, comme en Afrique, à Madagascar, en Asie du Sud-Est et dans les nombreuses îles du Pacifique. Ces régions représentent des centres importants de diversité secondaire de *Phaseolus*.

La seule espèce domestiquée du genre *Cajanus* : *C. cajan*, le pois cajan, est originaire de l'Inde mais des formes ou espèces sauvages apparentées sont présentes également en Birmanie, en Indonésie, aux Philippines, en Australie et en Afrique (Van Der Maesen, 1990). Sur ce continent, c'est en Afrique de l'Est que l'on rencontre le plus de variétés traditionnelles du pois cajan ainsi que des proches parents sauvages, comme *Cajanus kerstingii* Harms et *Cajanus scarabaeoides* (L.) Thouars. L'Afrique de l'Est peut donc être considérée comme un centre secondaire de diversité de *Cajanus* (Smartt, 1990).

Des missions de collecte ont été entreprises dans les régions de diversité des trois genres : *Phaseolus*, *Vigna* et *Cajanus* (Vanderborght, Baudoin, 1998 ; Mergeai *et al.*, 2001). Ces prospections ainsi que des échanges avec des stations de recherche et des universités de tous les continents, ont abouti au développement de larges collections variétales. Ces collections sont composées principalement de formes cultivées traditionnelles (les variétés de pays ou "landraces") mais aussi de formes sauvages et "sauvageoïdes", ces dernières résultant des échappées de culture ou d'hybridations accidentelles entre plantes sauvages et cultivées. Chez *Phaseolus* et *Vigna*, le matériel ainsi accumulé a été multiplié dans des serres tropicales à Gembloux. Les graines récoltées ont été séchées progressivement pour atteindre une teneur en eau de 4 % sur base de la matière sèche, mises dans des sachets d'aluminium complètement hermétiques et conservées à long terme en chambre froide à moins 20 °C, selon les recommandations émises par l'IPGRI ("International Plant Genetic Resources Institute") et la FAO (FAO, IPGRI, 1994).

Sous l'impulsion du professeur R. Maréchal, cette collection très diversifiée a été mise à profit pour clarifier la taxonomie des nombreuses introductions collectées. Des observations ont été réalisées dans les domaines de la cytologie, de la palynologie, de la morphologie et de l'analyse protéinique des graines. Les résultats et conclusions des travaux du professeur R. Maréchal et de ses collaborateurs ont été publiés en 1978 dans un numéro de la revue Boissiera. L'article intitulé "Étude 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" (Maréchal *et al.*, 1978) sert encore aujourd'hui de référence à de nombreux chercheurs étudiant l'organisation de la diversité génétique des légumineuses.

À partir de 1979, la collection maintenue à Gembloux a été désignée officiellement par l'IPGRI comme collection de base pour les espèces sauvages de *Phaseolus*. Elle est ainsi intégrée dans le réseau international IPGRI des collections *ex situ*. En 1983, la même collection a été également reconnue par l'IPGRI comme collection de base pour les espèces sauvages de *Vigna*.

Lors de la retraite du professeur R. Maréchal en 1988, la collection de base est transférée, avec l'approbation de l'IPGRI, au Jardin botanique national de Belgique, à Meise, lequel assume la responsabilité pour la multiplication et la conservation à long terme de la collection (Vanderborght, Baudoin, 1998). La Faculté de Gembloux collabore avec le Jardin de Meise en réalisant chaque année la multiplication et la régénération dans ses serres de certains taxons *Phaseolus*.

Actuellement, la collection initiée par les professeurs G. Le Marchand et R. Maréchal contient approximativement 1400 introductions, représentant plus de 180 taxa de la tribu des *Phaseoleae*, et est principalement axée sur la sous-tribu des *Phaseolinae*. Les données d'identification, de provenance et d'origine de toutes ces introductions sont gérées dans une base de données informatisée, placée sous la responsabilité du Docteur T. Vanderborgh du Jardin botanique national de Belgique.

4. ANALYSE DU GÉNOME

L'utilisation des marqueurs protéiques (protéines de réserve des graines, systèmes enzymatiques) et nucléiques (polymorphisme de restriction de l'ADNcp, RFLP, PCR, RAPD et AFLP) a permis de mieux comprendre l'organisation de la diversité génétique, au sein des deux genres *Phaseolus* et *Vigna* (Baudoin, *et al.*, 1995, Baudoin, Fofana *et al.* 1998 ; Fofana *et al.*, 1997 ab, 1998, 1999, 2001 ; Maquet *et al.*, 1994, 1997, 1999 ; Pasquet, Baudoin, 1997 ; Pasquet *et al.*, 1997 ; Schmit, Debouck, 1991 ; Schmit *et al.*, 1993, 1995, 1996 ; Vekemans *et al.*, 1998) . L'analyse des patrons électrophorétiques aux niveaux intra- et interpopulation a notamment permis d'estimer des distances génétiques entre taxons ou entre pools génétiques au sein d'une même espèce biologique. Cette organisation des génomes analysés correspond à l'existence sur le terrain de centres de diversité ainsi qu'à la répartition géographique des formes sauvages et des cultivars traditionnels observée chez plusieurs espèces domestiquées.

À titre d'exemple, chez le haricot de Lima (*Phaseolus lunatus*) originaire d'Amérique latine, les outils moléculaires utilisés dans nos essais ont permis d'identifier très clairement deux pools génétiques : un pool mésoaméricain, caractérisé par des variétés à petites graines et par une distribution très large (du Mexique à l'Argentine) et un pool andin, caractérisé par des variétés à grandes graines et par une distribution plus limitée (Pérou et Équateur). Au sein de chacun de ces deux pools, les formes sauvages et cultivées sont très proches génétiquement, suggérant une domestication indépendante de l'espèce dans, au minimum, deux centres de diversité. La grande variabilité des polymorphismes de restriction observée chez les formes cultivées résulte probablement de la fréquence élevée des hybrides entre variétés cultivées ainsi que de la forte pression sélective exercée par le milieu naturel et par l'agriculteur au cours du processus de domestication. Cette organisation de la diversité génétique du haricot de Lima a évidemment des implications directes dans la conception d'un travail d'amélioration variétale, notamment lors du

choix de génotypes parentaux génétiquement proches ou distants. Chez *P. polyanthus*, une légumineuse très rustique et très bien adaptée aux régions humides de hautes altitudes de l'Amérique latine, des travaux similaires portant sur l'électrophorèse des protéines de réserve de la graine et sur les polymorphismes de restriction de l'ADNcp, ont mis en évidence : un centre primaire de diversité au Guatemala (avec coexistence de formes sauvages, subspontanées et cultivées), une réduction de la diversité génétique des formes cultivées par rapport aux formes sauvages (une conséquence directe de l'effet de fondation bien décrit par Ladizinsky, 1985) et une aire de domestication s'étendant des régions montagneuses du Mexique, au nord, jusqu'à la zone nord-andine, au sud. L'analyse de la distribution de la diversité de cette légumineuse secondaire est également très utile pour la sélection de populations à la fois très rustiques mais aussi proches phylétiquement d'autres taxons du genre, comme le haricot commun *P. vulgaris*.

Chez le niébé, *Vigna unguiculata*, l'analyse des données isoenzymatiques, couplée avec l'observation des systèmes de reproduction et de la distribution écologique des formes sauvages et cultivées, a permis de retenir 11 taxons au rang de la sous-espèce (Pasquet, Baudoin, 1997). Cinq de ces sous-espèces, spontanées, sont pérennes, allogames et adaptées à des milieux plutôt humides, comme les marges des forêts équatoriales ou d'altitude. Elles se reconnaissent surtout à leurs caractères floraux. Cinq autres, spontanées, pérennes et allo-autogames, se rencontrent dans les savanes et sont reconnaissables à leurs caractères végétatifs : pubescence, petite taille des graines ou forme particulière des feuilles. Enfin, une sous-espèce est annuelle (subsp. *unguiculata*) et comprend des formes spontanées (var. *spontanea*) et les formes cultivées (var. *unguiculata*). La variété *spontanea* est un taxon de savane qui apparaît souvent en situation adventice dans les champs cultivés ou sur leur bordure. Les patrons isoenzymatiques confirment la structuration de *V. unguiculata* en trois ensembles : les sous-espèces allogames sont les plus éloignées des formes annuelles, alors que les sous-espèces allo-autogames en sont les plus proches.

5. DÉFINITION DES RÉSERVOIRS GÉNÉTIQUES

Sur base de l'analyse du génome, des essais d'aptitude à la combinaison ont été conduits entre les divers taxons domestiqués et sauvages. Plusieurs paramètres ont été pris en considération lors de ces tests, tels que le taux de réussite des hybridations, le développement des embryons, l'appariement chromosomique à la méiose, la qualité pollinique, la croissance et la fertilité des hybrides F1, l'amplitude des disjonctions

en F2, etc. Tenant compte des résultats de ces tests ainsi que des analyses génomiques, botaniques et phytogéographiques, le **tableau 1** et la **figure 1** donnent la composition des réservoirs génétiques ou des compartiments observée chez trois espèces : *P. vulgaris*, *P. lunatus* et *V. unguiculata*. Les deux premières espèces se caractérisent par une aptitude de compatibilité sexuée suffisamment large pour

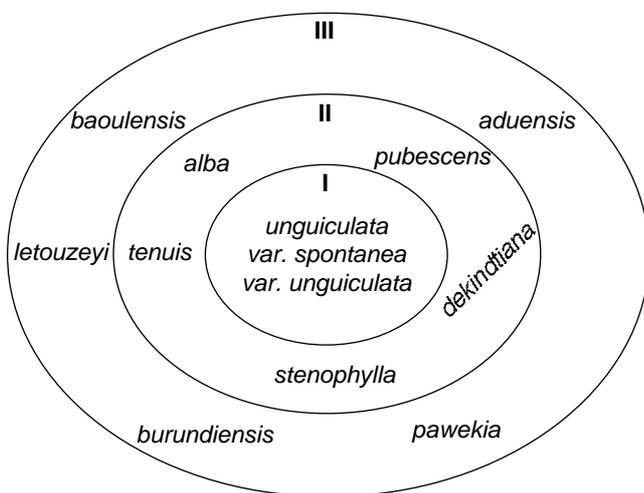
Tableau 1. Réservoirs génétiques secondaires et tertiaires des deux légumineuses vivrières : *P. vulgaris* et *P. lunatus*. — *Secondary and tertiary genetic reservoirs of the two food legumes: P. vulgaris and P. lunatus.*

Espèce étudiée	Réservoir génétique secondaire	Réservoir génétique tertiaire
<i>P. vulgaris</i> L.	<i>P. coccineus</i> L. ¹	<i>P. acutifolius</i> A. Gray ¹
	<i>P. polyanthus</i> Greenman ¹	<i>P. filiformis</i> Piper ²
	<i>P. costaricensis</i> Freytag & Debouck ²	<i>P. parviflorus</i> Freytag ²
<i>P. lunatus</i> L.	<i>P. pachyrrhizoides</i> Harms ²	<i>P. maculatus</i> Scheele ²
	<i>P. augusti</i> Harms ²	<i>P. ritensis</i> Jones ²
	<i>P. bolivianus</i> Piper ²	<i>P. polystachyus</i> Britt, Stern & Pogg ²
		<i>P. jaliscanus</i> Piper ²
		<i>P. salicifolius</i> Piper ²

¹ taxon domestiqué, avec formes sauvages et cultivées.

² taxon non domestiqué.

Sources : Baudoin, Maréchal, 1991 ; Baudoin *et al.*, 1995 ; Debouck, 1999.



I = sous-espèce annuelle autogame, II = sous-espèces pérennes allo-autogames, III = sous-espèces pérennes allogames.

Figure 1. Structuration de la légumineuse vivrière *V. unguiculata* en trois compartiments — *Structuration of the food legume V. unguiculata into three compartments.* Sources : Pasquet, Baudoin, 1997; Echikh, 2000.

autoriser l'obtention et l'utilisation d'hybridations interspécifiques en sélection variétale. La troisième espèce, *V. unguiculata*, apparaît biologiquement bien isolée au sein du genre *Vigna*. Toutes les tentatives d'hybridations interspécifiques ont à ce jour échoué : les barrières d'incompatibilité se manifestent au stade prézygotique dans les relations entre le pollen et le pistil, mais surtout postzygotique avec l'avortement des embryons globulaires. Néanmoins, chez cette espèce, le réservoir génétique primaire offre une très large diversité avec la présence de trois compartiments. Celui comprenant les formes spontanées pérennes allogames est plus distant des deux premiers et pourrait être assimilé à un réservoir génétique secondaire du niébé.

En fonction de l'importance des barrières d'incompatibilité reproductive entre espèces, des méthodes ont été conçues et appliquées pour surmonter les obstacles à la réussite d'hybridations entre espèces différentes ou entre sous-espèces éloignées : utilisation d'espèces-pont ou de cytoplasme compatible dans des croisements multiples, rétrocroisements, doublement du nombre chromosomique, culture *in vitro* des embryons immatures.

6. ÉVALUATION AGRONOMIQUE ET NUTRITIONNELLE DES COLLECTIONS

De nombreux écotypes sauvages et cultivés des collections ainsi constituées ont été évalués pour leur réaction à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques des régions tropicales de basses et de hautes altitudes. Une attention particulière a été accordée aux comportements des plantes vis-à-vis des maladies et des ravageurs. Le **tableau 2** indique les résistances observées chez trois espèces de *Phaseolus* domestiquées, considérées comme plantes secondaires par comparaison avec la principale espèce cultivée du genre (*P. vulgaris*). Ces résistances ont été confirmées par des tests d'inoculation artificielle réalisés en champ et en laboratoire. Il est à remarquer que la résistance de plusieurs populations de *P. coccineus* et *P. polyanthus* au virus de la mosaïque dorée du haricot (BGMV), à *Phoma exigua* var. *diversispora* (BUB.) BOERMA et à la mouche du haricot *Ophiomyia phaseoli* TRION est absente ou du moins faiblement exprimée chez le haricot commun, ce qui souligne l'intérêt de ce réservoir génétique secondaire pour la sélection variétale de *P. vulgaris*.

Concernant les contraintes abiotiques, les populations de *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. ritensis*, *P. acutifolius* et *P. filiformis* se distinguent par leur tolérance à la sécheresse ou aux températures élevées. Celles de *P. coccineus*, de *P. polyanthus*, de *P. costaricensis*, de *P. salicifolius* et de *P. polystachyus* se distinguent, au contraire, par une tolérance aux basses températures.

Tableau 2. Résistance de *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus* à diverses maladies et ravageurs des régions tropicales de basses et hautes altitudes — *Resistance of P. lunatus, P. coccineus and P. polyanthus to diseases and pests of lowland and highland tropical regions.*

<i>P. lunatus</i>	<i>P. coccineus</i> et <i>P. polyanthus</i>
Virus de la mosaïque dorée du haricot de Lima (LBGMV)	Virus de la mosaïque dorée du haricot (BGMV)
Virus de la marbrure verte du haricot de Lima (LBGrMV)	Ascochyte due à <i>Phoma exigua</i> var. <i>diversispora</i> (Bub.) Boerma
Jassides, <i>Empoasca kraemeri</i> Ross & Moore	Anthraxose due à <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (Sacc. & Magn.) Bri. & Cav.
Bruches, <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say)	Maladie des taches anguleuses due à <i>Phaeoisariopsis griseola</i> (Sacc.) Ferr.
Nématodes à galles des racines, <i>Meloidogyne</i> sp.	Mouche du haricot, <i>Ophiomyia phaseoli</i> Trion
	Jassides, <i>Empoasca kraemeri</i> Ross & Moore

Sources: Baudoin *et al.*, 1995 ; Busogoro, 1998; Obando *et al.*, 1990 ; Schmit, Baudoin, 1992.

Dans le but d'améliorer la qualité nutritionnelle des légumineuses alimentaires de *Phaseolus* et de *Vigna*, des graines de plusieurs génotypes cultivés et sauvages ont été analysées pour leur composition en protéines brutes, en acides aminés et en glucosides cyanogénétiques (Baudoin *et al.*, 1991 ; Baudoin, Maquet, 1999 ; Vanderborgh, Baudoin, 1998). Les résultats ont mis en évidence une forte variabilité génétique, en partie associée avec le statut biologique du matériel étudié (formes sauvages, variétés traditionnelles et formes sauvageoïdes issues de l'hybridation entre les deux premières catégories de plante). Il est intéressant de noter la teneur élevée en protéines, lysine, cystine et méthyl-cystéine observée chez plusieurs populations sauvages de *P. vulgaris* et *P. lunatus* mais aussi chez certaines espèces sauvages non domestiquées des deux genres *Phaseolus* et *Vigna*, avec une mention spéciale pour la très bonne valeur alimentaire des graines de *P. maculatus* et *P. polystachyus*.

De nombreux écotypes, principalement appartenant à des espèces et formes sauvages de *Vigna*, ont également été expérimentés comme fourrage, plante de couverture et engrais vert dans la gestion des terres cultivées et des jachères. Les résultats ont montré des comportements excellents de ce matériel pour les objectifs visés (Maréchal *et al.*, 1978).

Chez l'espèce *Cajanus cajan*, les essais d'évaluations agronomiques se sont concentrés sur les variétés cultivées traditionnelles de la légumineuse collectées dans les régions semi-arides du Kenya et de l'Ouganda. Des essais conduits en stations expérimen-

tales ou dans des serres ont permis d'identifier des génotypes résistants à deux maladies fongiques : la fusariose due à *Fusarium udum* BUTLER et la cercosporiose due à *Mycovellosiella cajani* (HENN.) RANGEL ex-TROTTER. Les génotypes du pois cajan collectés en Afrique de l'Est se distinguent aussi par une grande diversité génétique pour l'habitus de croissance, pour la réponse au photo- et thermopériodisme, pour la durée de la période précédant la maturité, ainsi que pour la couleur, la taille et la texture de la graine (Mergeai *et al.*, 2001).

Tous ces caractères agronomiques ou nutritionnels identifiés dans les collections génétiques de *Phaseolus*, *Vigna* et *Cajanus* ont permis de choisir les génotypes parentaux impliqués dans les programmes d'hybridations et de sélection variétale.

7. SÉLECTION VARIÉTALE

Dans le cas des légumineuses vivrières tropicales, et tenant compte de leur présence dans des systèmes culturaux souvent très diversifiés et complexes (exemple des associations culturales), toute sélection variétale devra nécessairement tirer parti de l'ensemble des pools géniques disponibles au niveau de chaque cultigène. Le matériel de départ sera constitué soit de vastes populations intraspécifiques (incluant variétés de terroir et formes sauvages), soit de populations hybrides interspécifiques. Nos travaux d'amélioration génétique menés dans la région andine ou en Afrique subsaharienne ont été élaborés dans l'optique d'une complémentarité avec les recherches poursuivies par les centres internationaux ou nationaux de recherche agronomique. Nos efforts de sélection variétale se sont donc focalisés sur la richesse génétique mise en évidence dans nos collections de formes sauvages et botaniques pour des traits utiles d'adaptation dans des zones marginales, comme la côte désertique du Pérou, les savanes de la côte atlantique de Colombie, les Andes froides et humides de hautes altitudes ou les régions semi-arides du Kenya et de l'Ouganda. La priorité a été accordée soit à la promotion des cultures dites secondaires (ou "orphelines"), comme *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus*, soit à l'introgession chez des légumineuses économiquement plus importantes (*P. vulgaris*, *V. unguiculata* et *C. cajan*) de gènes de résistance à des maladies ou de tolérance à des conditions abiotiques extrêmes (froid, stress hydrique, sols acides, etc.).

Les schémas de sélection ont aussi été conçus de manière à développer des variétés améliorées pour la culture associée, plus particulièrement l'association céréales (maïs, sorgho ou mil) avec légumineuses. Dans ce contexte, et compte tenu de la position

dominée de la légumineuse face à la céréale, des critères spécifiques de choix des génotypes ont été retenus, comme la bonne vigueur de croissance au stade juvénile, la réponse positive de la plante aux densités élevées de population, la tolérance à l'ombrage, la capacité de fixation symbiotique, etc. Cette multiplicité des critères de sélection justifie d'autant plus l'utilisation d'un vaste réservoir génétique au départ du programme d'amélioration (Baudoïn *et al.*, 1997).

Parmi tous les schémas de sélection variétale des plantes, nous avons opté pour les méthodes d'amélioration des populations, encore appelées méthodes de sélection cumulative ou récurrente. L'objectif de ces méthodes est de maintenir ou d'accroître, au cours de plusieurs générations, l'hétérozygotie ou la variabilité des populations initiales. La technique est caractérisée par des brassages cycliques comprenant, pour chaque cycle, deux phases successives : une phase de sélection destinée à cumuler les allèles favorables sur un nombre réduit d'individus et une phase d'intercroisements entre les meilleurs génotypes. La sélection cumulative est particulièrement efficace pour l'introduction dans le matériel cultivé de nombreux caractères, surtout si ces caractères sont à déterminisme polygénique et si l'effet d'additivité des gènes concernés est important. L'aboutissement de ces méthodes d'amélioration est la création de populations composites ou synthétiques, qui conserveront une hétérogénéité génétique suffisante et pourront donc être l'objet d'une sélection locale ultérieure (Baudoïn *et al.*, 1995 ; 2001).

La **figure 2** donne l'organigramme d'un travail d'amélioration réalisé dans les Andes de hautes altitudes en Colombie et au Pérou à partir d'une collection variétale de *Phaseolus* provenant des collections du CIAT (Colombie), de la "Universidad Nacional Agraria La Molina" (UNALM, Lima, Pérou), de la "Corporación Colombiano de Investigación Agropecuaria" (CORPOICA, Bogota, Colombie) et du Jardin botanique national de Belgique.

Ce travail d'amélioration variétale a été réalisé dans des stations expérimentales d'altitudes situées entre 1800 et 3500 m et caractérisées par une forte pression de l'ascochytose et de l'antracnose. Le matériel de départ était constitué de 170 populations de *P. polyanthus*, de 110 populations de *P. coccineus* et de 50 lignées déjà améliorées de *P. vulgaris*. Sur base des premiers tests d'évaluation agronomique, des essais intensifs d'hybridations interspécifiques ont abouti à la création de 360 combinaisons génotypiques issues d'hybrides directs – *P. vulgaris* × *P. coccineus*, *P. vulgaris* × *P. polyanthus*, *P. polyanthus* × *P. coccineus* – et de 220 combinaisons issues d'hybrides complexes – (*P. coccineus* × *P. vulgaris*) × *P. vulgaris*, (*P. coccineus* ×

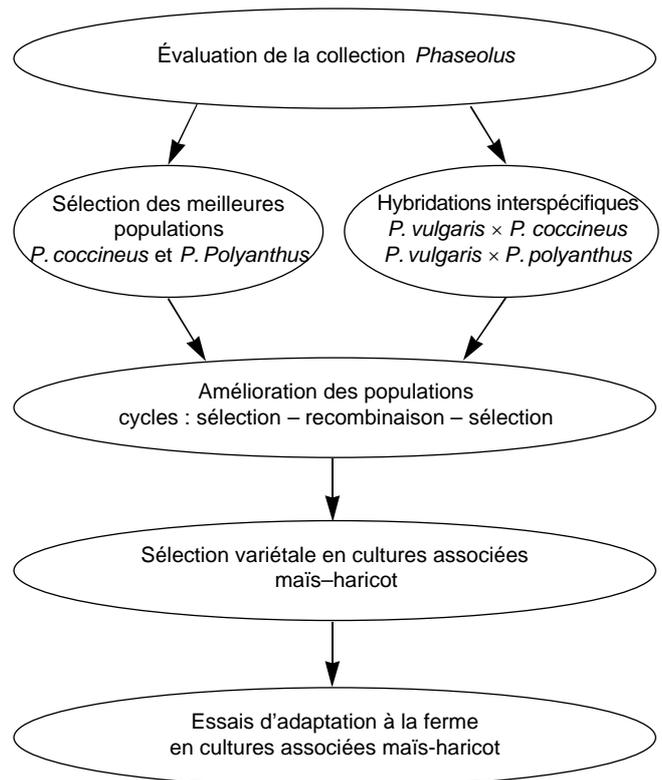


Figure 2. Organigramme d'un schéma d'amélioration génétique de *Phaseolus* dans les Andes de la Colombie et du Pérou — *Outline of a breeding programme of Phaseolus in the Colombian and Peruvian Andes.*

P. vulgaris) × *P. coccineus*, (*P. coccineus* × *P. vulgaris*) × *P. polyanthus*, (*P. polyanthus* × *P. vulgaris*) × *P. vulgaris*. Le suivi rigoureux d'un travail de sélection cumulative et l'apport régulier de nouvelles introductions *Phaseolus* dans les pépinières de recombinaison ont permis de développer des populations composites combinant fertilité, précocité et rusticité. Certaines de ces populations sont actuellement testées dans les petites exploitations des Andes péruviennes (Baudoïn *et al.*, 2001).

À l'opposé de ce travail d'amélioration dans une écologie d'altitude, des essais de sélection cumulative similaire, mais à un stade moins avancé, sont conduits avec le pois cajan pour les régions semi-arides de l'Afrique de l'Est. Ici, c'est principalement la biodiversité des variétés cultivées de terroir ("landraces") et des hybrides simples ou multiples entre celles-ci et des lignées élites qui constitue la base des travaux d'amélioration génétique. L'objectif principal est d'introduire la résistance à la fusariose dans chacun des principaux groupes de maturité de *Cajanus cajan* et de tester le comportement des populations hybrides dans les cultures intercalaires avec, comme plantes associées principales, le sorgho, le mil et le maïs.

8. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les progrès dans l'amélioration des légumineuses alimentaires sous les tropiques sont en grande partie conditionnés par la disponibilité de vastes réservoirs génétiques. Ces ressources dépassent le cadre des simples formes cultivées de l'espèce biologique et englobent très souvent plusieurs taxons phylétiquement proches. L'exploration des centres de diversité, la constitution de collections *ex situ* et la caractérisation complète des pools géniques de chaque légumineuse étudiée s'imposent comme une nécessité première. La seconde priorité consiste à tirer profit de cette biodiversité pour améliorer la production et la rusticité des cultivars diffusés. Cela impliquera la réalisation de vastes programmes d'hybridations entre toutes les formes sauvages et cultivées, collectées dans les centres de diversité. Ce travail se réalisera en collaboration étroite avec les instituts de recherche agronomique des pays du Sud et le matériel ainsi généré par ces croisements sera sélectionné et testé dans les systèmes culturels traditionnellement pratiqués au niveau de la petite exploitation rurale. Les recherches en sélection variétale devront être participatives et faire appel aux agriculteurs locaux et aux communautés paysannes pour les choix des génotypes appropriés à leurs objectifs.

Ce travail de sélection variétale doit être soutenu et poursuivi sans relâche car l'amélioration génétique est essentiellement un processus dynamique. Des techniques avancées pourront s'intégrer utilement dans ces investigations menées sur le terrain, en particulier les cultures tissulaires pour la création d'hybrides difficiles et l'assistance des marqueurs moléculaires pour approfondir l'étude de la diversité des pools géniques et faciliter les opérations de tri des génotypes les plus performants en cours de sélection.

La conservation *ex situ* d'un vaste réservoir génétique pour chaque espèce étudiée constitue le point de départ des recherches orientées vers la production d'un matériel végétal amélioré et son adaptation dans des systèmes de productions agricoles durables. Néanmoins ce mode de préservation *ex situ* ne permet pas d'éviter une modification de l'intégrité génétique de chaque introduction collectée ni une perte du potentiel évolutif des ressources génétiques présentes. Ce type de préservation, le plus souvent dans un nombre limité de sites éloignés du biotope d'origine de la plante, pose plusieurs problèmes qui résultent notamment du manque de connaissance des besoins physiologiques, des systèmes de reproduction et des adaptations écologiques des diverses populations de la collection. La conséquence est une dérive génétique prononcée et une perte progressive des complexes alléliques utiles pour l'adaptation des génotypes à des environnements variés. Pour

surmonter ces contraintes, il est indispensable de s'intégrer dans des réseaux décentralisés de conservation des ressources phytogénétiques et de mettre en place des stratégies complémentaires. Cela pourrait être la conservation *ex situ* dans plusieurs sites écologiques appropriés à la gamme des formes sauvages et botaniques collectées ou la conservation *in situ* dans des régions de diversité bien localisées pour une ou quelques espèces ciblées (Baudoin, Degreef *et al.*s 1998 ; Vanderborgh, Baudoin, 1998). Une expérience est en cours pour la préservation *in situ* des populations spontanées du haricot de Lima dans la vallée centrale du Costa Rica, considérée comme une région de diversité pour le pool mésoaméricain de la légumineuse. Des échantillons de graines de populations représentatives de l'espèce sont régulièrement collectés dans la vallée et mis en conservation *in situ* (dans des "microréserves" protégées) et *ex situ* (dans la collection de base). Cette expérience permet ainsi d'associer les deux modes de conservation *in situ* et *ex situ* et de garantir, d'une certaine manière, à la fois l'intégrité génétique et le potentiel évolutif du matériel sauvage.

Remerciements

Les recherches réalisées sur les ressources génétiques *Phaseolus*, *Vigna* et *Cajanus* ont été, en partie, financées par la Direction générale de la Coopération internationale (DGCI, ex-AGCD, Bruxelles), l'Union européenne (UE, Direction générale, XII) et le Fonds de la Recherche fondamentale collective (FRFC, Bruxelles). Nous les en remercions.

Bibliographie

- Baudoin JP., Maquet A. (1999). Improvement and amino acid contents in seeds of food legume. A case study in *Phaseolus*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 3 (4) p. 220–224.
- Baudoin JP., Maréchal R. (1991). Wide crosses and taxonomy of pulse crops, with special emphasis on *Phaseolus* and *Vigna*. In NQ. Ng, P. Perrino, F. Attere, H. Zedan (eds). *Crop genetic resources of Africa. Vol. II, Proceedings of an International Conference on Crop Genetic Resources of Africa, 17–20 October 1988, Ibadan, Nigeria*. Nigeria: IITA/IBPGR/UNEP/CNR, p. 287–302.
- Baudoin JP., Barthelemy JP., Ndungo V. (1991). Cyanide production of the Lima bean, *Phaseolus lunatus* L.: genetic variability in the primary and secondary gene pools and in some intraspecific hybrid populations. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* 26 (3), p. 367–388.

- Baudoin JP., Camarena F., Lobo M. (1995). Amélioration de quatre espèces de légumineuses alimentaires tropicales *Phaseolus vulgaris*, *P. coccineus*, *P. polyanthus* et *P. lunatus*. Sélection intra- et interspécifique. In J. Dubois, Y. Demarly. *Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?* Paris : AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, p. 31–49.
- Baudoin JP., Camarena F., Lobo M. (1997). Improving *Phaseolus* genotypes for multiple cropping systems. *Euphytica* **96**, p. 115–123.
- Baudoin JP., Degreef J., Hardy O., Janard F., Maquet A., Zoro Bi I. (1998). Development of an *in situ* conservation strategy for wild Lima bean populations in the Central Valley of Costa Rica. In Owens SJ., Rudall PJ. *Reproductive Biology in systematics, conservation and economic botany. An International Conference at the Royal Botanic Gardens, Kew, 1-5 September 1996 (UK)*, p. 417–426.
- Baudoin JP., Fofana B., du Jardin P., Vekemans X. (1998). Diversity and genetic organization of the genus *Phaseolus*. Analysis of the global and chloroplastic genome. In *International Symposium on breeding of protein and oil crops, EUCARPIA*. Pontevedra, Spain: Fundación Pedro Barrié De La Maza, p. 75–76.
- Baudoin JP., Camarena F., Lobo M., Mergeai G. (2001). Breeding *Phaseolus* for intercrop combinations in Andean highlands. In HD. Cooper, C. Spillane, T. Hodgkin (Eds). *Broadening the genetic bases of crop*. Wallingford, UK: CAB International, p. 373–384.
- Busogoro JP. (1998). *Comportement pathogénique et polymorphisme moléculaire d'isolats africains de Phaeoisariopsis griseola (Sacc.) Ferr., l'agent des taches anguleuses de Phaseolus vulgaris L., et recherche de nouvelles sources de résistance à cette maladie*. Thèse de Doctorat en Sciences agronomiques et Ingénierie biologique. Fac. Univ. Sci. Agron. Gembloux. 171 p.
- Debouck DG. (1986). Primary diversification of *Phaseolus* in the Americas: three centres ? *Plant Genet. Res. Newsl.* (FAO/IBPGR) **67**, p. 2–8.
- Debouck DG. (1999). Diversity in *Phaseolus* species in relation to the common bean. In SP. Singh. *Common bean improvement in the twenty-first century*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 25–52.
- Debouck DG. (2000). Biodiversity, ecology and genetic resources of *Phaseolus* beans – Seven answered and unanswered questions. In *The Seventh MAFF International Workshop on Genetic Resources. Part. 1. Wild legumes*. Tsukuba, Ibaraki, Japan: National Institute of Agrobiological Resources, p. 95–123.
- Echikh N. (2000). *Organisation du pool génique de formes sauvages et cultivées d'une légumineuse alimentaire, Vigna unguiculata (L.) Walp.* Thèse de Doctorat en Sciences agronomiques et Ingénierie biologique. Fac. Univ. Sci. Agron. Gembloux, Belgique, 307 p.
- FAO, IPGRI (1994). *Genebanks standards*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations ; International Plant Genetic Resources Institute, 13 p.
- Fofana B., Harvengt L., Baudoin JP., du Jardin P. (1997a). New primers for the polymerase chain amplification of cpDNA intergenic spacers in *Phaseolus* phylogeny. *Belg. J. Bot.* **129** (2) p. 118–122.
- Fofana B., Vekemans X., du Jardin P., Baudoin JP. (1997b). Genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by RAPD markers. *Euphytica* **95**, p. 157–165.
- Fofana B., Martiat JC., Baudoin JP., du Jardin P. (1998). Cleavage fragment length polymorphism (CFLP): a methodology to further exploit polymorphisms from PCR products of plastid DNA (pt DNA) in *Phaseolus*. *Plant Mol. Biol. Rep.* **16**, p. 271–282.
- Fofana B., Baudoin JP., Vekemans X., Debouck DG., du Jardin P. (1999). Molecular evidence for an Andean origin and a secondary gene pool for the Lima bean (*Phaseolus lunatus*) using chloroplast DNA. *Theor. Appl. Genet.* **98**, p. 202–212.
- Fofana B., du Jardin P., Baudoin JP. (2001). Genetic diversity in the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by chloroplast DNA (cpDNA) variations. *Genet. Resour. Crop Evol.* **48**, p. 437–445.
- Harlan JR., De Wet MJM. (1971). Towards a rational classification of cultivated plants. *Taxon* **20**, p. 509–517.
- Ladizinsky G. (1985). Founder effect in crop-plant evolution. *Econ. Bot.* **39** (2), p. 191–199.
- Maquet A., Wathelet B., Baudoin JP. (1994). Study on isozyme polymorphism in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). In WM. Roca, JE. Mayer, MA. Pastor-Corrales, J. Tohme (Eds). *Phaseolus beans advanced biotechnology research network. Proceedings of the Second International Scientific Meeting, 7–10 Sept. 1993*, CIAT (Cali, Colombia), p. 87–96.
- Maquet A., Zoro Bi I., Delvaux M., Wathelet B., Baudoin JP. (1997). Genetic structure of a Lima bean base collection using allozyme markers. *Theor. Appl. Genet.* **95**, p. 980–991.
- Maquet A., Vekemans X., Baudoin JP. (1999). Phylogenetic study on wild allies of Lima bean and implication on its origin. *Plant. Syst. Evol.* **218**, p. 43–54.
- Maréchal R., Mascherpa JM., Stainier (1978). Étude 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**, p. 1–273.
- Mergeai G., Kimani P., Mwang'ombe A., Smith C., Baudoin JP., Le Roi A. (2001). Survey of pigeonpea production characteristics in semi arid lands of Kenya. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **5**, p. 145–153.
- Obando L., Baudoin JP., Dickburst C., Lepoivre P. (1990). Identification de sources de résistance à l'ascochytose du haricot au sein du genre *Phaseolus*. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* **25** (4) p. 443–457.
- Pasquet R., Baudoin JP. (1997). Le niébé, *Vigna unguiculata*. In A. Charrier, M. Jacquot, S. Hammon,

- D. Nicolas (Eds). *L'amélioration des plantes tropicales*. Montpellier, France : CIRAD-ORSTOM, p. 483–505.
- Pasquet RS., Echikh N., Gepts P., Baudoin JP. (1997). La domestication du niébé, *Vigna unguiculata* (L.) WALP. *In Gestion des ressources génétiques des plantes en Afrique des savanes, 24–28 février 1997, Bamako (Mali)*. Mali : IER ; France : BRG ; SOLAGRAL, p. 261–270.
- Schmit V., Baudoin JP. (1992). Screening for resistance to *Ascochyta blight* in populations of *P. coccineus* L. and *P. polyanthus* GREENMAN. *Field Crops Res.* **30**, p. 155–165.
- Schmit V., Debouck DG. (1991). Observations on the origin of *Phaseolus polyanthus* Greenman. *Econ. Bot.* **45**, p. 345–364.
- Schmit V., du Jardin P., Baudoin JP., Debouck DG. (1993). Use of chloroplast DNA polymorphism for the phylogenetic study of seven *Phaseolus* taxa including *P. vulgaris* and *P. coccineus*. *Theor. Appl. Genet.* **87**, p. 506–516.
- Schmit V., Muñoz JE., du Jardin P., Baudoin JP., Debouck DGD. (1995). Phylogenetic studies of some *Phaseolus* taxa on the basis of chloroplast DNA polymorphisms. *In* WM. Roca, JE. Mayer, MA. Pastor-Corrales, J. Tohme. *Phaseolus beans advanced biotechnology research network. Proceedings of the Second International Scientific Meeting, 7–10 Sept. 1993, CIAT (Cali, Colombia)*, p. 69–75.
- Schmit V., Debouck DG., Baudoin JP. (1996). Biogeographical and molecular observations on *Phaseolus glabellus* (Fabaceae, Phaseolinae) and its taxonomic status. *Taxon* **45**, p. 493–501.
- Smartt J. (1990). *Grain legumes. Evolution and genetic resources*. Cambridge: Cambridge University Press. 379 p.
- van der Maesen LJG. (1990). Pigeonpea: origin, history, evolution and taxonomy. *In* YL. Nene, SD. Hall, VK. Sheila (Eds). *The pigeonpea*. Wallingford, UK: C.A.B. International, p. 15–46.
- Vanderborgh T., Baudoin JP. (1998). La collection de base des espèces sauvages de *Phaseolus* et *Vigna* : historique, gestion et conservation. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **2** (1) p. 27–35.
- Vekemans X., Hardy O., Bruno B., Fofana B., Baudoin JP. (1998). Use of PCR-RFLP in chloroplast DNA to investigate phylogenetic relationships in the genus *Phaseolus*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **2** (2) p. 128–134.

(37 réf.)