



Etude de la diversité génétique de l'ulluco (*Ullucus tuberosus* Loz.) en conservation *ex situ*.

M. Malice¹, C L. Villarroel Vogt¹, Rochez G.¹, C. Arbizu², J.P. Baudoin¹

¹ Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux – Unité de phytotechnie tropicale et Horticulture. Passage des Déportés, 2 B-5030 Gembloux (Belgique).
malice.m@fsagx.ac.be

² CIP (Centro Internacional de la Papa), Apartado 1558, Lima 12, Pérou.

Résumé. La diversité génétique a été étudiée au sein de 63 accessions d'ulluco conservées *ex situ* par le CIP. Les marqueurs moléculaires ISSR révèlent un pourcentage moyen de polymorphisme de 51,2% et répartissent les accessions en 8 groupes, en relation avec leur origine géographique et leurs caractéristiques morphologiques.

Abstract. Genetic diversity has been studied within 63 accessions of ulluco conserved *ex situ* in the CIP. The molecular markers ISSR reveal a mean polymorphism percentage of 51,2% and divide the accessions into 8 groups, according to their geographical origin and morphological characters.

Introduction. L'ulluco (*Ullucus tuberosus* Loz.) est une espèce tubéreuse endémique des Andes, cultivée depuis des milliers d'années en hautes altitudes (entre 3000 et 4000 mètres). Son aire de culture s'étend du Nord de l'Argentine à la Colombie (Cardenas, 1989). L'ulluco y est cultivé de façon traditionnelle, principalement pour ses tubercules. D'une importance comparable à la pomme de terre, il constitue la base de la ration alimentaire de nombreuses familles. Malgré son importance pour les populations rurales des Andes, il reste une culture secondaire et peu connue mondialement (Izquierdo & Roca, 2000). L'ulluco produit rarement des graines en conditions culturales et la propagation de cette espèce est réalisée exclusivement via les tubercules (Pietilä & Jokela, 1994). La diversité génétique au sein de l'espèce semble être très élevée (Rousi *et al.*, 1989). Très peu d'études ont porté sur l'analyse moléculaire de cette diversité, qui est actuellement étudiée sur base de caractères morphologiques (Tapia *et al.*, 2004). Le modèle de variation génétique intraspécifique de l'ulluco est très peu connu. L'étude morphologique et moléculaire de la diversité intraspécifique de l'ulluco contribuera, d'une part à l'élaboration de plans de conservation des

ressources génétiques; et d'autre part au développement d'un modèle génétique pour les plantes propagées végétativement.

Matériels et méthodes. Les accessions étudiées proviennent de la collection *ex situ* maintenue par le CIP (Centro Internacional de la Papa – Lima, Pérou). Cette collection se compose essentiellement d'accessions provenant du Pérou mais comporte également des accessions provenant des autres pays andins (Bolivie notamment), qui permettront d'élargir l'étude à l'ensemble de la zone andine. Ces accessions ont fait l'objet de caractérisation morphologique et des morphotypes ont été définis par le CIP. Un morphotype représente un ensemble d'accessions provenant généralement 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. Pour compléter cette étude morphologique, 63 accessions, représentant la diversité écotopographique de la collection (60 accessions péruviennes et 3 accessions boliviennes), ont été caractérisées à l'aide des marqueurs moléculaires ISSR (Zietkiewicz *et al.*, 1994). La reproductibilité des bandes a été vérifiée grâce à un test F statistique. Un dendrogramme a été construit sur base de la distance de Dice (dist. de Nei-Li) et du modèle de regroupement UPGMA (Logiciel TREECON, Van de Peer et De Wachter, 1994). La distribution géographique de ces accessions a été étudiée grâce au logiciel DIVA-GIS 2.4 (Hijmans *et al.*, 2002).

Résultats et discussions. Les premiers essais de mise au point des conditions d'amplification PCR-ISSR ont révélé la présence importante de polysaccharides dans les extraits d'ADN. Les feuilles d'ulluco sont connues pour être mucilagineuses (Popenoe, 1989). Une inhibition de la *Taq* polymérase a été observée et a été éliminée par une étape de purification. Un protocole spécifique d'amplification PCR-ISSR a été développé. Des 16 amorces ISSR testées, 9 ont été sélectionnées pour leur capacité à produire des bandes reproductibles et interprétables. Ces 9 amorces produisent un total de 96 bandes dont 81 sont reproductibles (77.8%). Ceci confirme la forte reproductibilité des marqueurs ISSR, comparés aux autres types de marqueurs moléculaires (RAPD notamment). Parmi les bandes reproductibles utilisées dans l'analyse des résultats, 41 bandes sont polymorphes (pourcentage moyen de polymorphisme 51.2%), ce qui indique une forte diversité de l'espèce. L'analyse des données moléculaires ISSR a permis de générer un dendrogramme structurant la population en 8 groupes. Les accessions du Pérou se répartissent dans ces groupes en fonction de leur origine géographique. Ceci est confirmé par l'analyse de la répartition géographique. Le maximum de la diversité génétique se situe dans les Département péruviens de Cajamarca et Cuzco. Par contre, les analyses n'ont pas permis d'isoler les accessions de Bolivie. En outre, les résultats semblent indiquer une correspondance entre la structuration de la diversité génétique intraspécifique de l'ulluco

étudiée grâce aux marqueurs morphologiques et moléculaires. Ceci est fortement visible pour 13 accessions composant un morphotype et formant ensemble le huitième groupe défini sur le dendrogramme.

Conclusions et perspectives. Les accessions étudiées ont permis une première analyse du modèle de variation de l'ulluco. Les résultats de l'analyse ISSR montrent une relation avec l'origine géographique des accessions, ainsi qu'avec leurs caractères morphologiques. Néanmoins ces considérations doivent encore être confirmées par une étude plus large. Des analyses concernant 136 accessions supplémentaires de la collection du CIP sont en cours. Le nombre total des accessions ainsi étudiées constituera un échantillon suffisamment large, nécessaire pour déterminer la structure génétique intraspécifique globale de l'ulluco et permettre la mise en œuvre de stratégies raisonnées de gestion et de conservation des ressources génétiques, tant *ex situ* que *in situ*.

Bibliographie.

- Cardenas, M. (1989). Enciclopedia boliviana; Manual de plantas economicas de Bolivia; 2^a edicion. Editorial de los amigos del libro, La Paz - Cochabamba, Bolivie.
- Hijmans R., Guarino L., Bussink C., Barrantes I., Rojas E. (2002). DIVA-GIS, Version 2. Sistema de Información Geográfica para el Análisis de Datos de Biodiversidad. Manual. International Potato Center, Lima, Perú. 67p.
- Izquierdo J., Roca W. (2000). Under-utilized Andean food crops: status and prospects of plant biotechnology for the conservation and sustainable agricultural use of genetic resources. *Electronic Journal of Biotechnology* 3(1): 1-17.
- Pietilä L., Jokela P. (1994). Developmental abnormalities in the ovule and embryo sac of ulluco (*Ullucus tuberosus*) and their effect on seed set. *Euphytica* 75: 31-39.
- Rousi A., Jokela P., Kalliola R., Pietilä L., Salo J., Yli-Rekola M. (1989). Morphological Variation among clones of Ulluco (*Ullucus tuberosus*, Basallaceae) Collected in Southern Peru. *Economic Botany* 43(1): 58-72.
- Tapia C., Estrella J., Monteros A., Valverde F., Nieto M., Córdova J. (2004). Manejo y conservación de RTAs *in situ* en fincas de agricultores y *ex situ* en el banco de germoplasma de INIAP (Capítulo II). In: V.Barrera; C. Tapia y A. Monteros (eds.), no. 4., Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Quito, Ecuador - Lima, Perú, p. 31-74
- 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. Applic. Biosci.* 10: 569-570.
- Zietkiewics E., Rafalski A., Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183.