

Introduction

Du fait de l'accroissement de la population, le monde fait face à un besoin également croissant en nourriture. En effet, 39 pays ont actuellement besoin d'aide alimentaire extérieure (FAO, 2018). Y compris dans ces pays, le Sénégal a un peu moins de la moitié de sa population (42%) qui arrive juste à satisfaire ses besoins alimentaires (WFP, 2014). Avec une alimentation à base essentiellement de céréales et d'un peu de légumes, de sucres et d'huile, les ménages en situation de grande vulnérabilité se trouvent en majorité en zones rurales. On note également que 60% des ménages sénégalais ne consomment pas d'aliment riche en fer, 27% ne consomment pas d'aliment riche en protéines (WFP, 2014). Pouvant participer à l'atteinte de la sécurité alimentaire dans le pays, le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) est une légumineuse originaire de l'Afrique du Sud-Est qui est maintenant présent un peu partout dans le monde. C'est une plante à haute valeur nutritive dont les graines représentent une précieuse source de protéines végétales et de vitamines (Odah, 1995 cité par Ndong *et al.*, 2012). Elles contiennent 23 à 25% de protéine, 50 à 67% d'amidon, des vitamines B tel que l'acide folique important dans la prévention des défauts de naissance et des nutriments essentiels tel que le fer, le calcium et le zinc (Cissé et Hall, 1998 cité par Kébé et Sembène, 2011). En plus d'être une des légumineuses de base de nombreux plats sénégalais, le niébé fait l'objet d'un commerce important. Sa surface emblavée au Sénégal qui est de 183 422 hectares, a permis d'avoir une production de 105 016 tonnes lors de la campagne de 2016/2017 (ANSD, 2017).

Cependant, malgré les efforts des cultivateurs, d'énormes pertes lors de la production du niébé sont notées et cela à plusieurs niveaux. Outre les pertes dues aux conditions climatiques, le niébé subit des attaques de champignons, de bactéries, de virus mais également d'insectes déprédateurs. Ces derniers, lors du stockage des graines, sont responsables de la destruction à hauteur de 80% à 100% du stock (Mofunanya et Namgbe, 2016). Parmi ces insectes déprédateurs, on retrouve *Callosobruchus maculatus* (Fab.), une bruche dont la femelle adulte pond ces œufs sur les gousses ou directement sur les graines (Kébé et Sembène, 2011). Les larves de *C. maculatus*, au cours de leur développement, transforment l'azote en acide urique toxique qui va s'accumuler dans la graine et de ce fait la rendre impropre à la consommation (Doumma *et al.*, 2011). Cet insecte a la capacité d'infester le niébé à deux niveaux : dès le champ et dans les lieux de stockage. Pour faciliter sa survie dans ces différents milieux, *C. maculatus* présente deux formes caractérisées par l'aptitude ou non au vol et qui ont été observées pour la première fois par Utida (1953). Ce dernier les nomma la « forme voilière » et la « forme non voilière ». En plus des différences morphologiques, ces formes présentent

également des différences comportementales. L'existence d'une composante génétique régulant l'apparition de la forme voilière a longtemps été étudié dans les travaux de Harrisson (1980), et de Brisson (2010) plus récemment chez une espèce présentant également ce type de dimorphisme.

Ainsi, face à ce polymorphisme et l'importance des gènes sur le phénotype, nous nous devons donc de compléter nos connaissances sur les événements génétiques affectants ce dimorphisme.

C'est dans ce sens que l'objectif de ce travail consiste à connaître les caractéristiques génétiques des formes voilière et non voilière de *C. maculatus* au Sénégal. Pour atteindre cet objectif, nous nous sommes fixés les objectifs spécifiques suivants :

- Déterminer la variabilité génétique de chaque forme et identifier les haplotypes.
- Evaluer la différenciation et la structuration génétique en fonctions des deux formes
- Déterminer l'évolution démographique des deux formes et la relation phylogénétique existant entre les individus ces formes.

Pour cela, notre travail est décliné en trois chapitres. Le premier est une revue bibliographique revenant sur les connaissances antérieures en rapport avec *C. maculatus*. Le second est une description du matériel et des méthodes utilisés au cours de cette étude qui sera suivi par un troisième concernant les résultats que nous discuterons avant de conclure et de dégager des perspectives et de formuler des recommandations à l'endroit des travaux futurs sur *C. maculatus*.

I. Chapitre I : Revue Bibliographique

I.1. L'insecte

I.1.1. Description et position systématique

Répertorié pour la première fois par Fabricius (1775), *Callosobruchus maculatus* fut classé dans le règne animal, l'embranchement des arthropodes, le sous embranchement des mandibulates ou antennates, la classe des insectes, le superordre des coléoptéroïdes, l'ordre des coléoptères, famille des Chrysomelidae, la sous famille des bruchinae, le genre *Callosobruchus* et l'espèce *Callosobruchus maculatus*. Sa position systématique actuelle a été précisée par Bridwell en 1929 puis par Southgate en 1979. La bruche du niébé communément appelée bruche à 4 taches ou bruche maculée comprend d'autres synonymies : *Bruchus quadrimatriculatus*, *Bruchidius maculatus*, *B. ornatus*, *B. ambiguus*, *B. simatus*. Les anglosaxons l'appellent communément « Cowpea weevil ».

Petit coléoptère à corps court et trapu, l'adulte de *C. maculatus* est généralement de couleur brun-roux et mesure environ 3mm. Seuls les trois premiers articles et le dernier tarse sont apparents. En vue dorsale, la tête opisthographe est cachée par la partie dorsale du prothorax. Les deux élytres recouvrent le prothorax à l'exception d'un petit écusson de forme rectangulaire ou triangulaire. Les élytres recouvrent également tous les tergites abdominaux à l'exception du dernier qui est le pygidium. Un dimorphisme sexuel est observé chez *C. maculatus*. C'est ainsi qu'une coloration différente des élytres et du pygidium permet de reconnaître le mâle et la femelle. A cela on ajoute que chez certaines souches, la femelle a des dimensions plus importantes que les mâles (Beck et Blumer, 2011).



Figure 1 : Adultes de *C. maculatus*. A : mâle, B : Femelle, C : représentation de l'insecte (Source : Beck et Blumer, 2011)

I.1.2. Cycle de vie

- Œuf :

Après la copulation, les femelles de *C. maculatus* semblent opérer un choix de site de ponte en déposant 60% de leurs œufs sur des gousses jaunissantes. Ces œufs sont collés sur les parois latérales des gousses (Doumma *et al.*, 2006) Quand ils sont fraîchement pondus, les œufs sont

translucides, lisses et brillants. Par la suite, ils deviennent blancs jaunâtres et très proéminent contre le fond contrasté de la surface de la graine (Devi et Devi, 2014). Les œufs de *C. maculatus* sont généralement bien répartis sur les différents substrats de ponte disponibles. Lors de la ponte, une phéromone de marquage est déposée en même temps que l'œuf (Delobel et Tran, 1993). Ceci permet à la femelle d'éviter les graines fortement infestées et de réduire ainsi la compétition inter-larvaire. Les descendants issus de gros œufs éclosent plus rapidement avec un taux d'éclosion et de survie larvaire élevé. Lors du développement, les individus issus de ces œufs produisent des adultes grands et plus tolérant à la pénurie alimentaire et à la dessiccation (Fox, 1994).

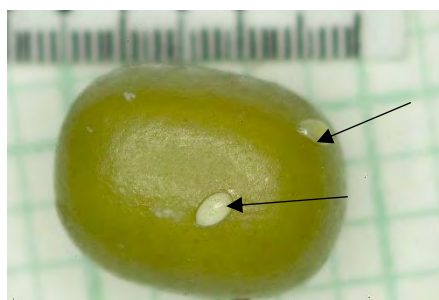


Figure 2 : Œufs de *C. maculatus*
(Source : Beck et Blumer, 2011)

- Etat larvaire :

Cinq (5) à sept (7) jours après la ponte et dans les conditions les plus favorables, on assiste à l'éclosion de la larve. Cette dernière, sans patte motrice, perfore la paroi externe de l'enveloppe de la gousse ou du tégument de la graine et rentre à l'intérieur. Le taux de survie de la larve devient plus important si celle-ci éclos sur les graines où elle a un accès direct aux ressources nutritives. Si l'œuf a été pondue sur la gousse, la larve peut aboutir dans l'espace entre les graines ou sur une graine à faible réserve, insuffisante pour permettre son développement jusqu'au stade final. Le développement post embryonnaire de *C. maculatus* se fait en quatre stades larvaires successifs dénommés L1, L2, L3 et L4. Les trois premiers stades généralement immobiles, mais présentent des pattes vestigiales alors que le dernier n'est mobile que chez certains avec formation d'un cocon à l'extérieur (Devi et Devi, 2014).



Figure 3 : Différents stade larvaires de *C. maculatus*
(Source : Devi et Devi, 2014).

o Larve L1 :

La larve néonée de type chrysomélien creuse la base de l'œuf et attaque la graine et commence à se transformer. La larve est blanche, incurvée avec une petite tête blanche. Elle possède trois petites pattes non fonctionnelles et une plaque prothoracique. Elle mesure entre 0,52 et 0,69 mm de longs (Devi et Devi, 2014).



Figure 4 : Larve L1
(Source : Devi et Devi, 2014).

o Larve L2 :

De type rynchophorien, la larve L2 présente dans la graine continue de s'enfoncer tout en se nourrissant de l'endosperme. Ce stade dure 3 à 4 jours et à ce niveau, la larve 1 à 1,3 mm de long. Elle est sans patte ni plaque prothoracique (Devi et Devi, 2014).



Figure 5 : Larve L2
(Source : Devi et Devi, 2014)

o Larve L3 :

Plus vorace et active que les précédentes formes, la larve L3 continue à agrandir la galerie où elle loge. La larve est ici plus grosse et mesure maintenant 2,10 à 2,99 mm de long (Devi et Devi, 2014).



Figure 6 : Larve L3
(Source : Devi et Devi, 2014)

o Larve L4 :

Elle est blanche à jaunâtre et recourbée en « C » et est similaire à la larve L3 si ce n'est la différence en taille et en forme, la larve mesure entre 3,9 et 4,06 mm de long. A ce niveau d'avancement, la larve devient plus large après s'être nourrie d'une grande partie de l'endosperme de la graine. Elle va aménager dans une logette arquée et tapissée d'acide urique où se déroulera la nymphose (Devi et Devi, 2014).



Figure 7 : Larve 4
(Source : Devi et Devi, 2014)

- Nymphes :

Durant la nymphose, les structures larvaires sont détruites tandis que celles adultes se développent. Les ébauches d'ailes apparaissent le premier jour suivi par les appendices tels que les pattes et les antennes. Le troisième jour on a le développement des yeux, des parties de la bouche, des ailes antérieures et postérieures avec des poils cubiculaires. Au quatrième jour, toutes les parties développées sauf les régions inter segmentales sont sans couleur et les ailes antérieures sont vert clair. Au cinquième jour, ces ailes antérieures deviennent marron foncé avec des taches noires. Cette période peut durer entre 7 à 28 jours et aboutir à la formation d'un adulte (Devi et Devi, 2014).

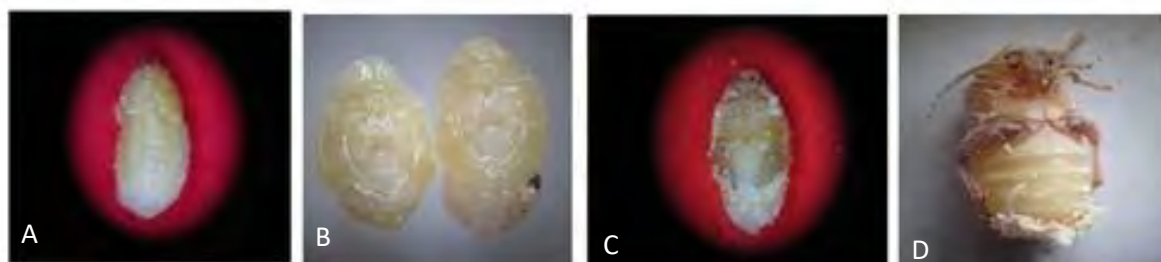


Figure 8 : Différents stades de nymphose de *C. maculatus*. A : Premier stade, B : second stade, C : troisième stade, D : quatrième stade.
(Source : Devi et Devi, 2014)

- Adulte :

Au terme de la nymphose, l'adulte émerge de la graine en passant par la fenêtre de sortie préparée par la larve et laisse un trou circulaire sur la membrane tégumentaire de la graine. *C. maculatus* adulte vivra une vie libre et les mâles se mettent en quête des femelles afin de se

reproduire et de relancer le cycle. Durant cette phase, l'adulte ne présente pas un besoin fort d'eau ni de nourriture (Devi et Devi, 2014).

I.1.3. La plante hôte : *Vigna unguiculata*

Vigna unguiculata ou encore communément appelé « niébé » ou « cowpea » par les anglosaxons est une plante annuelle autogame. C'est une plante herbacée à port rampant, semi rampant ou droit de 80cm de haut à système racinaire plagiotrope et nodulé. Rencontré à l'état cultivé ou subspontané, *V. unguiculata* possède des feuilles alternes, trifoliées, à folioles lancéolées, le médian étant souvent plus grand que les deux autres. Les caractéristiques des graines et des gousses sont très diversifiées chez les formes cultivées et peuvent permettre de différencier les cultivars. Ainsi, la gousse peut être entièrement pourpre, pigmentée sur les valves, sur les sutures ou à son extrémité, marbrée ou dépourvue de pigments (Brice *et al.*, 2016).

Au Sénégal, la culture du niébé a connu une évolution. D'une superficie estimée à 90 685 hectares en 2001, elle passe à 183 422 hectares en 2017 (ANSD, 2017). Sa culture exige peu d'engrais à cause de son aptitude à réaliser la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Le niébé peut donc être cultivé sur des sols pauvres et est recommandé dans les rotations et les associations de culture.

Le niébé joue un rôle important dans l'alimentation traditionnelle. Il agit comme un complément nutritionnel dans le cas de régime alimentaire déficients en protéines. En effet, les graines de niébé sont riches en protéines et sont également constituées de la plupart des acides aminés essentiels, à l'exception des acides aminés soufrés (Brice *et al.*, 2016).



Figure 9 : *Vigna unguiculata*

(Source : <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Vigna+unguiculata+unguiculata>)

I.1.4. Les dégâts causés par *Callosobruchus maculatus* sur le niébé

Callosobruchus maculatus est l'un des insectes qui exercent une pression permanente sur le niébé au stade post récolte (Brice *et al.*, 2016). Les dégâts observés sur le niébé sont causés par les stades juvéniles de l'insecte. Du fait de la taille très petite des œufs de l'insecte, il est difficile de remarquer les signes indiquant leur présence sur les graines. Ceci facilite le transfert ces graines infestées dans les stocks. Si cette infestation n'est pas restreinte, on assiste à une croissance exponentielle de la population. Ainsi la présence de cet insecte peut entraîner dans les stocks des pertes pouvant atteindre 80% à 100% des graines conservées (Mofunanya et Namgbe, 2016). En se nourrissant des réserves des graines, on note une perte de nature pondérale ce qui affecte la capacité de germination des graines. (Mofunanya et Namgbe, 2016). Les dégâts ont également un effet sur la commercialisation des stocks. En effet, les graines infestées sont impropres à la consommation ce qui en retour affecte les ventes. L'active consommation des réserves des graines par les larves provoque l'apparition de la chaleur et de l'humidité favorisant le développement des champignons comme *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Botrytis sp.* (Adebayo *et al.*, 2019).

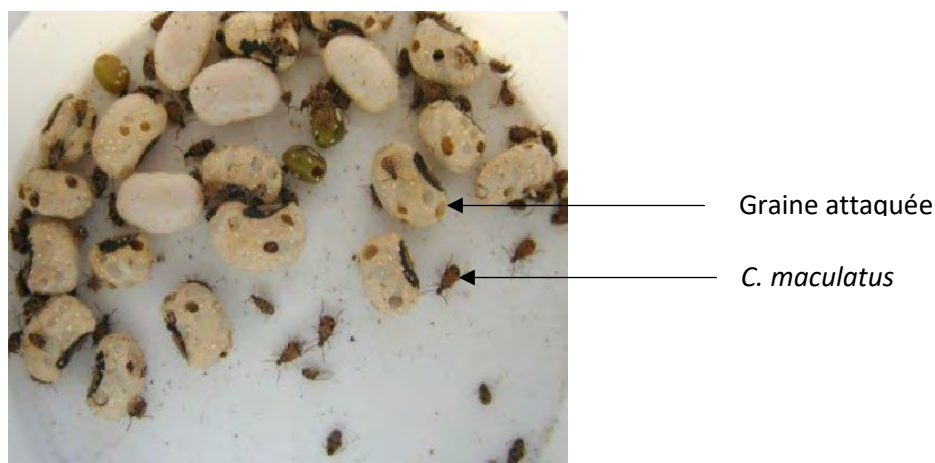


Figure 10 : Graines de niébé attaquées par *C. maculatus*
(Source : Srivastava et Subramanian, 2016)

I.1.5. Stratégies de lutte contre le ravageur

Pour faire face aux problèmes générés par *C. maculatus*, des moyens de luttas ont été mis en place. Parmi ces moyens, nous avons les méthodes traditionnelles qui sont conçues de manière à être compatible avec les moyens dont dispose le cultivateur. Cependant, cette méthode ne protège pas de manière efficiente les stocks. Nous avons également la lutte chimique. Ce basant sur l'utilisation de pesticide, elle présente des conséquences importantes à cause de son utilisation répétée (résistance des ravageurs, contamination des denrées agricoles et

alimentaires). Aussi comme stratégies de lutte, nous avons la résistances variétale (consiste à introduire des facteurs de résistances dans les variétés de *Vigna unguiculata*), la lutte biologique (avec l'utilisation d'organisme vivant comme régulateur des populations), l'utilisation de plantes insecticides (plantes à effet répulsifs de contact ou fumigeant) (Brice *et al.*, 2016).

I.2. Le dimorphisme imaginal chez les insectes

Considéré comme l'un des événements les plus significatifs de l'évolution des insectes, l'aptitude au vol a permis la colonisation de territoire spatialement et temporellement hétérogènes. Cette aptitude a permis aux insectes de migrer sur des distances relativement courtes à la recherche de nouveaux habitats mais également sur des distances très importantes allant jusqu'à plusieurs milliers de kilomètres (Roff et Fairbain, 1991). La dispersion des individus agit comme une importante procédure de stabilisation dans la dynamique des populations, influence le devenir des interactions des espèces et détermine directement le flot de gènes et la structuration génétique des populations (Denno, 1994).

Les variations des ailes se manifestent chez les insectes par l'existence de deux morphotypes : la forme voilière où l'insecte présente des ailes et est apte au vol et la forme non-voilière où les ailes ne sont pas développées ou non existant. On note également un polymorphisme s'exprimant à travers des longueurs d'ailes différentes. Dans ce cas, des morphotypes intermédiaires sont présents. Les ailes étant l'exemple les plus évident de variation affectant la capacité de dispersion, on note cependant une variation du développement des muscles liés au vol. Ainsi chez les formes voilière et non voilière, ces muscles de taille réduite sont dus soit à l'arrêt du développement (ce qui fait que ces muscles n'ont jamais été fonctionnels), soit à la dégénérescence de muscle précédemment fonctionnel (dégénérescence faite par histolyse) (Harrison, 1980).

Chez *Callosobruchus maculatus*, en plus du dimorphisme sexuel, le dimorphisme imaginal est noté. Ce dimorphisme d'abord observé par Utida (1953) se manifeste par des différences morphologiques, physiologiques et comportementales chez *C. maculatus* adulte. L'insecte présente deux formes dénommées par Utida : « forme voilière » (forme de dispersion, avec des adultes présentant des ailes fonctionnelles) et la « forme non voilière » (forme sédentaire)

I.2.1. La forme non voilière de *Callosobruchus maculatus*

La forme non voilière, également appelé la forme normale est caractérisé par un pygidium pigmenté chez la femelle et les élytres sont peu tachetés chez le mâle. Leurs muscles alaires sont atrophiés les rendant par conséquent incapable de voler (Ouédraogo *et al.*, 1991). La forme non voilière est également la forme d'infestation. En effet la femelle de *C. maculatus* appartenant à cette forme présente une fécondité élevée et peut atteindre 100 œufs par femelle (Glitho *et al.*, 1988) ; 60-90 œufs (Delobel et Tran, 1993). Ces individus sont inféodés aux stocks de niébé et possèdent une faible longévité (6-8 jours à 30°C) (Delobel et Tran, 1993). Selon Utida (1972), la forme non voilière est issue d'une néoténie également comme *C. chinensis*, l'infestation et le développement sur des graines sèches entraînent une suppression importante du métamorphisme et donc une prédominance de la forme non voilière (Nahdy *et al.*, 1999).



Figure 11 : *Callosobruchus maculatus* adulte de la forme non voilière
(Source : <https://www.biolib.cz/en/image/id304537/>)

I.2.2. La forme voilière de *Callosobruchus maculatus*

C'est la forme de dispersion. Les adultes de cette forme ont une capacité de vol les permettant d'infester les champs. Les femelles présentent un pygidium clair, chez les mâles, les élytres sont tachetés. Les individus appartenant à la forme voilière sont également caractérisés par une faible fécondité et parfois une infertilité comme la souche indienne de *C. maculatus* (Pajni et Airi, 2017). Il est à noter que la descendance de cette forme est constituée des individus de la forme non voilière. Leur longévité est d'environ un mois à 30°C (Delobel et Tran, 1993). L'apparition de cette forme selon les travaux de Utida (1972) de même que ceux de Ouédraogo *et al.* (1991) peut être liée aux conditions du milieu tel que la température, l'humidité relative de même que la densité larvaire. Utida (1972) ajoute à cela le paramètre héréditaire.



Figure 12 : *Callosobruchus maculatus* adulte de la forme voilière

Source : © 2010 W. Middlekauff

(https://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?enlarge=7777+7777+0910+0591)