

COMMUNAUTÉ FRANÇAISE DE BELGIQUE
FACULTÉ UNIVERSITAIRE DES SCIENCES AGRONOMIQUES DE GEMBOUX

**Diversité génétique et réponse aux contraintes
du climat : une étude de cas à partir de la biologie
des populations de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)
de Bolivie**

CARMEN ROSA DEL CASTILLO GUTIERREZ

Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en
sciences agronomiques et ingénierie biologique

Promoteurs : Prof. G. MAHY (Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de
Gembloux) et T. WINKEL (Chargé de Recherche, Institut de Recherche
pour le Développement – IRD – France)

2008

Del Castillo G. Carmen Rosa 2008. Diversité génétique et réponse aux contraintes du climat : une étude de cas à partir de la biologie des populations de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) de Bolivie. Thèse de doctorat. Gembloux : Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques. 143 p., 27 tabl., 37 fig., 4 photos

Résumé

Les écosystèmes agricoles des hauts plateaux andins sont soumis à des contraintes environnementales fortes, encore renforcées par les changements globaux actuels (réchauffement climatique, expansion agricole, mondialisation des échanges...). Longtemps, la diversité des pratiques agricoles, en particulier celle des espèces cultivées, a assuré le maintien de l'agriculture dans cet environnement rigoureux et imprévisible. La tendance actuelle à l'uniformisation agricole pose donc la question du rôle de la diversité génétique des cultures pour la durabilité des agro-écosystèmes, notamment face aux aléas du climat. La quinoa, culture originaire des Andes devenue récemment l'objet d'un commerce international prospère, est exemplaire de ces questions liant diversité biologique et adaptation à un milieu changeant.

Une approche pluridisciplinaire et multi-échelle a été utilisée pour mieux comprendre les bases génétiques et écophysologiques de la diversité des quinoas cultivées sur l'Altiplano bolivien. Ces travaux ont porté sur (i) la caractérisation de la diversité génétique de populations de quinoa à l'aide de marqueurs moléculaires, (ii) la caractérisation de la variation phénotypique intra- et inter- populations, (iii) l'étude en champ des relations entre hétérogénéité de croissance des plantes et tolérance aux basses températures chez deux variétés de quinoa de l'Altiplano bolivien.

Les résultats obtenus précisent le niveau de structuration écogéographique des populations de quinoa de l'Altiplano bolivien : ces populations se différencient suivant des contrastes climatiques régionaux, mais ne sont pas liées à des microclimats locaux. Cette absence de spécialisation permet aux diverses populations locales de rester viables malgré l'imprévisibilité spatiale et temporelle du climat andin. Elle repose en partie sur une forte variabilité phénotypique intra-population, bénéfique en terme de tolérance des plantes au froid, mais dont l'importance pour la stabilité de la production de biomasse reste à élucider.

Mots-clés : adaptation au climat – agrodiversité – Bolivie – *Chenopodium quinoa* – écogéographie – génétique des populations

Del Castillo G. Carmen Rosa 2008. Genetic diversity and responses to climatic stresses : a case study based on the population biology of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) in Bolivia. PhD Thesis, in French. Gembloux, Belgium: Gembloux Agricultural University. 143 p., 27 tabl., 37 fig., 4 photos

Abstract

Agricultural ecosystems in Andean highlands are exposed to harsh environmental stresses, still reinforced by the present global changes (climate warming, agricultural expansion, trade globalization...). For long times, the diversity of agricultural practices, particularly of crop species, allowed to maintain agriculture in this harsh and unpredictable environment. The present trend of agricultural homogenisation call into question the role of crop genetic diversity for the sustainability of agro-ecosystems, particularly in face of climate hazards. Quinoa, a grain crop originating from the Andes and recently emerging in international trade, exemplifies the debate about the relations between biological diversity and adaptation to changing conditions.

A multidisciplinary multiscale approach was used to better understand the genetic and ecophysiological basis of the diversity of quinoa cultivated in the Bolivian Altiplano. These studies focused on (i) the characterization of genetic diversity of quinoa populations by molecular markers, (ii) the characterization of phenotypic variation within and among populations, (iii) the field study of the relationships between plant growth heterogeneity and low temperature tolerance in two quinoa varieties from the Bolivian Altiplano.

The results specify the level of ecogeographical structuration of the quinoa populations on the Bolivian Altiplano: these populations differentiate themselves along regional climate contrasts, but do not show relations to local microclimates. This lack of specialization allows the various local populations to remain viable in spite of the spatially and temporally unpredictable Andean climate. It is based partly on a high within-population phenotypical variability, beneficial for the plant tolerance towards frost, but which significance for the stability in biomass production remains to be clarified.

Keywords : adaptation to climate – agrodiversity – Bolivia – *Chenopodium quinoa* – ecogeography – population genetics

Del Castillo G. Carmen Rosa 2008. Diversidad genética y respuesta al estrés climático: estudio de caso basado en la biología de poblaciones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Bolivia. Tesis doctoral, en francés. Gembloux, Bélgica: Facultad Universitaria de Ciencias Agronómicas. 143 p., 27 tabl., 37 fig., 4 fotos

Resumen

Los ecosistemas agrícolas de las mesetas andinas están sometidos a fuertes limitaciones medioambientales, aún más notorias por los cambios globales actuales (recalentamiento climático, expansión agrícola, mundialización de los intercambios...). Por mucho tiempo, la diversidad de las prácticas agrícolas, en particular de las especies cultivadas, garantizó el mantenimiento de la agricultura en este medio ambiente riguroso e imprevisible. La tendencia actual a la uniformización agrícola plantea la cuestión del papel de la diversidad genética de los cultivos para la durabilidad de los agro-ecosistemas, en particular, frente a los riesgos climáticos. La quinua, cultivo originario de los Andes y recientemente convertido en el objeto de un comercio internacional próspero, es el ejemplo de estas preguntas vinculando diversidad biológica y adaptación a un medio cambiante.

Se ha utilizado un enfoque pluridisciplinario y a multi-escala para entender mejor las bases genéticas y ecofisiológicas de la diversidad de quinuas cultivadas sobre el Altiplano boliviano. El trabajo se llevó a cabo bajo los siguientes estudios (i) caracterización de la diversidad genética de poblaciones de quinua con el uso de marcadores moleculares, (ii) caracterización de la variación fenotípica intra e inter poblaciones, (iii) estudio en campo de las relaciones entre heterogeneidad de crecimiento de las plantas y tolerancia a las bajas temperaturas en dos variedades de quinua del Altiplano boliviano.

Los resultados obtenidos precisan el nivel de estructuración ecogeográfica de las poblaciones de quinua del Altiplano boliviano: estas poblaciones se diferencian según contrastes climáticos regionales, pero no están vinculadas a microclimas locales. Esta ausencia de especialización permite a las distintas poblaciones locales seguir siendo viables a pesar de la imprevisibilidad espacial y temporal del clima andino. Se basa en parte en una fuerte variabilidad fenotípica intra-población, beneficiosa en términos de tolerancia de las plantas al frío, pero cuya importancia para la estabilidad de la producción de biomasa queda por esclarecer.

Palabras claves: adaptación al clima – agrodiversidad – Bolivia – *Chenopodium quinoa* – ecogeografía – genética de poblaciones

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE 1 INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1.1 PROBLÉMATIQUE GÉNÉRALE	3
1.2 LE SYSTÈME ALTIPLANO - QUINOA	4
1.3 OBJECTIFS	5
1.4 ORGANISATION DE LA THÈSE	6
CHAPITRE 2 PRÉSENTATION GÉNÉRALE DU CADRE BIOPHYSIQUE ET THÉORIQUE DE L'ÉTUDE.....	7
2.1 CADRE PHYSIQUE.....	9
2.1.1 Généralités et situation géographique	9
2.1.2 Caractéristiques des écosystèmes de la zone d'étude	11
2.1.3 Caractéristiques climatiques	11
2.2 DESCRIPTION DE LA CULTURE DE QUINOA	15
2.2.1 Origine et distribution géographique	15
2.2.2 Description botanique.....	15
2.2.3 Physiologie de la quinoa	18
2.2.3.1 <i>Résistance à la sécheresse</i>	19
2.2.3.2 <i>Résistance au froid</i>	20
2.2.3.4 <i>Phénologie de la quinoa</i>	21
2.2.4 Génétique et diversité de la quinoa.....	22
2.2.5 Techniques culturales	26
2.2.6 Valeur alimentaire	27
2.3. AGROBIODIVERSITÉ ET FONCTIONNEMENT DES AGROÉCOSYSTÈMES	28
2.4 AGROBIODIVERSITÉ ET CONSERVATION DES RESSOURCES AGRICOLES	30
2.5 QUINOA, AGROBIODIVERSITÉ ET ÉCONOMIE	32
CHAPITRE 3 CARACTÉRISATION GÉNÉTIQUE DE LA QUINOA À L'AIDE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES RAPD.....	35
3.1 INTRODUCTION.....	37

3.2	SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	38
3.2.1	Marqueurs moléculaires.....	38
3.2.2	Principe de la Polymerase Chain Reaction.....	40
3.2.3	Description de la technique RAPD.....	40
3.3	MATÉRIEL ET MÉTHODES	41
3.3.1	Zone d'étude et matériel végétal.....	41
3.3.2	Extraction de l'ADN.....	43
3.3.2.1	<i>Méthode d'extraction retenue</i>	43
3.3.2.2	<i>Qualité, quantité et amplification d'ADN</i>	44
3.3.3	Analyses des données.....	45
3.3.3.1	<i>Analyse de la structure génétique</i>	45
3.3.3.2	<i>Patrons géographiques de la diversité génétique</i>	47
3.3.3.3	<i>Organisation de la diversité génétique à l'échelle des individus</i>	47
3.3.3.4	<i>Diversité génétique moyenne des populations</i>	48
3.4	RÉSULTATS	48
3.4.1	Différentiation entre formes spontanées et cultivées.....	48
3.4.2	Structure génétique des populations.....	48
3.4.3	Diversité génétique des populations.....	52
3.5	DISCUSSION	53
3.5.1	Relations entre marqueurs moléculaires.....	53
3.5.2	Comparaison entre les formes spontanées et cultivées de quinoa.....	54
3.5.3	Structure génétique.....	54
3.5.4	Diversité génétique des populations étudiées.....	55
3.6	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	56

CHAPITRE 4 VARIATION PHÉNOTYPIQUE INTRA- ET INTER-POPULATIONS DANS SEPT POPULATIONS DE QUINOA.....57

4.1	INTRODUCTION	59
4.2	OBJECTIFS	60
4.3	SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	60
4.3.1	Biodiversité et ressources génétiques.....	60
4.3.2	Variabilité morphologique.....	60
4.4	MATÉRIELS ET MÉTHODES	61
4.4.1	Site d'étude.....	61

4.4.2	Matériel végétal	62
4.4.3	Conditions de culture.....	62
4.4.4	Plan expérimental.....	64
4.4.5	Données collectées	64
4.4.6	Analyses statistiques.....	65
4.5	RÉSULTATS	67
4.5.1	Statistiques descriptives des traits morpho-phénologiques	67
4.5.2	Analyses de corrélation entre traits morpho-phénologiques.....	69
4.5.3	Structure de la variation phénotypique.....	70
4.5.4	Variation inter-populations	71
4.5.5	Variation inter-familles.....	74
4.5.6	Variation intra-familles.....	77
4.5.7	Analyse en composantes principales et classification hiérarchique	78
4.5.8	Analyse discriminante	82
4.5.9	Analyse de contingence morphologie/génétique	82
4.5	DISCUSSION.....	83
4.6	CONCLUSION	85
CHAPITRE 5 CROISSANCE, HÉTÉROGÉNÉITÉ ET RÉPONSE AUX ASSES		
TEMPÉRATURES CHEZ DEUX VARIÉTÉS DE QUINOA GÉNÉTIQUEMENT		
CONTRASTÉES.....87		
5.1	INTRODUCTION.....	89
5.2	OBJECTIFS	90
5.3	SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	90
5.3.1	Pratiques de gestion agricole dans l'Altiplano.....	90
5.3.2	Caractérisation des risques de gelée sur l'Altiplano bolivien.....	91
5.3.3	Plasticité phénotypique	91
5.3.4	Mécanismes de réponses de la culture de quinoa au gel.....	92
5.4	MATÉRIEL ET MÉTHODES	93
5.4.1	Site d'étude	93
5.4.2	Matériel biologique et mode de culture	94
5.4.3	Plan expérimental.....	95
5.4.4	Variables mesurées.....	96
5.4.4.1	<i>Phénologie et croissance des plantes</i>	<i>96</i>
5.4.4.2	<i>Matière sèche.....</i>	<i>96</i>

5.4.4.3	<i>Potentiel hydrique foliaire</i>	96
5.4.5	Analyse statistique	96
5.5	RÉSULTATS	97
5.5.1	Conditions climatiques des cycles de culture.....	97
5.5.2	Potentiel hydrique foliaire.....	99
5.5.3	Dynamique des températures de l'air et des plantes au sein du couvert	100
5.5.3.1	<i>Profils verticaux de températures</i>	100
5.5.3.2	<i>Température foliaire minimale vs. hauteur de la plante</i>	101
5.5.4	Hétérogénéité de la croissance des plantes et de la production de graines	104
5.5.4.1	<i>Hauteur de la plante</i>	104
5.5.4.2	<i>Nombre de feuilles</i>	106
5.5.4.3	<i>Début et durée de la floraison</i>	107
5.5.2.5	<i>Relation entre croissance et production</i>	108
5.6	DISCUSSION ET CONCLUSION	109
5.6.1	Gradients de température à l'intérieur du couvert.....	109
5.6.2	Effet d'abri thermique et hétérogénéité de la croissance entre plantes.....	110
CHAPITRE 6	CONCLUSION GÉNÉRALE.....	113
	<i>Des écotypes différenciés à l'échelle régionale</i>	115
	<i>Une variabilité intra-population avec un intérêt adaptatif face aux aléas du climat ?</i>	117
BIBLIOGRAPHIE.....		119

LISTE DES FIGURES

Figure 2-1	Carte de localisation de la Bolivie.....	10
Figure 2-2	Profil physiographique de la Bolivie montrant ses trois zones écologiques principales : Altiplano, vallées d'altitude et plaines tropicales (d'après Montes de Oca 1997).....	10
Figure 2-3	Carte des précipitations moyennes annuelles dans l'Altiplano bolivien (d'après Geerts <i>et al.</i> 2006).....	14
Figure 2-4	Distribution géographique de la culture traditionnelle de quinoa en Amérique du Sud (la densité des points reflète l'importance relative de la culture) (d'après National Research Council 1989).....	16
Figure 2-5	Phases phénologiques de la quinoa (d'après FAO 2001).....	22
Figure 3-1	Localisation des 8 populations de quinoa échantillonnées sur l'altiplano bolivien (les codes de population sont les mêmes que pour le tableau 3-1).....	42
Figure 3-2	Dendrogramme UPGMA des 8 populations de quinoa sur la base des marqueurs RAPD.....	50
Figure 3-3	Dendrogramme UPGMA des 87 individus de quinoa sur la base des marqueurs RAPD (groupe A : Altiplano nord et centre, groupe B : vallée interandine, groupe C : Altiplano sud).	51
Figure 4-1	Schéma de la distribution des sept populations de quinoa au cours des deux cycles de culture.	63
Figure 4-2	Répartition de la variance phénotypique au sein de sept populations de <i>Ch. quinoa</i> pour a) 11 traits morfo-phénologiques observés en Année 1 (2004-2005) et b) 13 traits morfo-phénologiques observés en Année 2 (2005-2006).....	70
Figure 4-3a	Répartition de la variance phénotypique inter-familles (noir) et intra-familles (grisé) pour 11 traits morfo-phénologiques observés en Année 1 (2004-2005) au sein de sept populations de <i>Ch. quinoa</i> (** : trait sans variation au sein de la population <i>njo</i>).....	75
Figure 4-3b	Répartition de la variance phénotypique inter-familles (noir) et intra-familles (grisé) pour 13 traits morfo-phénologiques observés en Année 2 (2005-2006) au sein de sept populations de <i>Ch. quinoa</i>	76
Figure 4-4	Projection des 14 descripteurs morfo-phénologiques sur les 2 premiers axes de l'ACP obtenue à partir des données des années 2004-2005 et 2005-2006.	79

Figure 4-5	Projection des 70 familles de quinoa appartenant à 7 populations sur les 2 premiers axes de l'ACP obtenue à partir des données morpho-phénologiques des années 2004-2005 et 2005-2006.	80
Figure 4-6	Dendrogramme UPGMA des 70 familles de quinoa appartenant à 7 populations sur la base des traits morpho-physiologiques moyens observés sur les deux années d'étude.	81
Figure 5-1	Fréquence des gelées au seuil de -3°C au cours du cycle de culture à Viacha (d'après Le Tacon <i>et al.</i> 1992).	94
Figure 5-2	Plan de la parcelle expérimentale.	95
Figure 5-3	Répartition des précipitations mensuelles au cours des deux cycles de culture et en moyenne sur 30 ans à la station expérimentale de Choquenaira.	97
Figure 5-4	Variations de la température de l'air à 0.5 m et 1.5 m de hauteur au cours des deux cycles de culture dans la Station Expérimentale de Choquenaira.	98
Figure 5-5	Dynamique du potentiel hydrique de base (noir) et minimal (blanc) au cours du premier cycle de culture (SU : Surumi, BY : Blanca, les barres verticales correspondent à l'erreur standard, n = 5, JAE = jour après émergence).	99
Figure 5-6	Dynamique du potentiel hydrique de base (noir) et minimal (blanc) au cours du deuxième cycle de culture (SU : Surumi, BY : Blanca, les barres verticales correspondent à l'erreur standard, n = 5, JAE = jour après émergence).	99
Figure 5-7	Profils verticaux de température minimale de l'air dans les parcelles (a : cycle 1, b : cycle 2). Les nombres et les courbes correspondent aux jours après émergence.	100
Figure 5-8	Profils verticaux de température maximale de l'air dans les parcelles (a : cycle 1, b : cycle 2). Les nombres et les courbes correspondent aux jours après émergence.	101
Figure 5-9	Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété Surumi aux JAE 60 et 133 du premier cycle de culture.	102
Figure 5-10	Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété Blanca aux JAE 60, 89, 111 et 154 du premier cycle de culture.	102
Figure 5-11	Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété Surumi aux JAE 52, 65, 93 et 99 du deuxième cycle de culture.	103
Figure 5-12	Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété Blanca au JAE 92 du deuxième cycle de culture.	103
Figure 5-13	Évolution de la hauteur moyenne des plantes et de l'amplitude entre les hauteurs maximales et minimales au cours du cycle 2001-2002.	104

Figure 5-14	Évolution du coefficient de variation de la hauteur des plantes (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs) au cours du cycle 2001-2002.....	105
Figure 5-15	Évolution de la hauteur moyenne des plantes et de l'amplitude entre les hauteurs maximales et minimales au cours du cycle 2002-2003 (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs).....	105
Figure 5-16	Évolution du coefficient de variation de la hauteur des plantes au cours du cycle 2002-2003 (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs).....	106
Figure 5-17	Moyenne (a) et coefficient de variation (b) du nombre de feuilles par plante au cours du premier cycle de culture (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs). Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 16).	106
Figure 5-18	Moyenne (a) et coefficient de variation (b) du nombre de feuilles par plante au cours du second cycle de culture (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs). Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 16).	107
Figure 5-19	Début et durée de floraison des variétés Surumi et Blanca (les barres verticales représentent l'erreur standard, n = 16).....	107
Figure 5-20	Biomasse aérienne totale (g de matière sèche par plante) pour les deux variétés et pour les deux cycles de culture (les barres verticales représentent l'erreur standard, n = 16)	108
Figure 5-21	Indice de récolte pour les deux variétés et pour les deux cycles de culture (les barres verticales représentent l'erreur standard, n = 16).	108
Figure 5-22	Relation entre la hauteur des plantes et le nombre de feuilles, la biomasse aérienne totale et la production de graines pour les deux variétés au cours du premier cycle de culture (n = 16).....	109

LISTE DES PHOTOS

Photo 2-1	Quinoa en champ paysan (26/04/2002, Villa Cajata, province d'Achacachi) montrant une grande variabilité de couleurs et de formes des panicules.	25
Photo 2-2	Vésicules d'oxalate de calcium sur : a) la partie terminale d'une jeune plante, b) le limbe et le pétiole d'une jeune feuille et c) un limbe foliaire (gros plan).	25
Photo 2-3	Différentes techniques d'égrenage des panicules de quinoa.....	25
Photo 4-1	Dispositif en jardin commun installé à Viacha en 2004-2005 et 2005-2006 : a) vue générale montrant le filet para-grêle, b) vue rapprochée d'une série de familles au stade post-floraison.	63

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2-1	Caractéristiques des principales régions de production de quinoa (d'après Montes de Oca 1997).....	11
Tableau 2-2	Principales caractéristiques climatiques des régions de production de quinoa	12
Tableau 2-3	Précipitation annuelle de 39 stations climatiques de l'Altiplano bolivien.....	13
Tableau 2-4	Mécanismes de résistance à la sécheresse de la quinoa (d'après Mujica <i>et al.</i> 2001).....	19
Tableau 2-5	Mécanismes de résistance au froid de la quinoa (d'après Mujica <i>et al.</i> 2001).....	20
Tableau 2-6	Banques de gènes de la quinoa en Amérique du Sud (d'après Rojas 1998, Figueroa <i>et al.</i> 2002).....	24
Tableau 3-1	Localisation des sites d'échantillonnage pour l'étude de la structure génétique des populations de quinoa de l'Altiplano bolivien.....	42
Tableau 3-2	Liste des séquences des 10 amorces retenues.....	45
Tableau 3-3	Analyse de variance moléculaire classique à trois niveaux.....	46
Tableau 3-4	Analyse de variance moléculaire à deux niveaux hiérarchiques.....	48
Tableau 3-5	Matrice des F_{ST} et des distances en kilomètres entre les populations étudiées...	49
Tableau 3-6	Analyses de variance moléculaire à trois niveaux hiérarchiques.....	50
Tableau 3-7	Diversité génétique au sein de 8 populations de quinoa de l'altiplano bolivien.....	53
Tableau 4-1	Localisation des sites d'échantillonnage pour l'étude de la variation phénotypique des populations de quinoa de l'Altiplano bolivien.....	62
Tableau 4-2	Conditions climatiques des deux cycles de culture.....	64
Tableau 4-3	Analyse de variance hiérarchique à 2 niveaux.....	66
Tableau 4-4	Statistiques de tendance centrale et de dispersion des traits morphophénologiques observés dans les deux saisons étudiées (n = 700, A1 = 2004-2005, A2 = 2005-2006).....	68
Tableau 4-5	Coefficients de corrélation entre traits morpho-phénologiques observés en 2004-2005 (n = 700, les coefficients en gras ou en italiques sont significatifs à $P = 0.01$ et $P = 0.05$ respectivement).....	69
Tableau 4-6	Coefficients de corrélation entre traits morpho-phénologiques observés en 2005-2006 (n = 700, les coefficients en gras ou en italiques sont significatifs à $P = 0.01$ et $P = 0.05$ respectivement).....	69

Tableau 4-7a Comparaison des moyennes des populations par le test de rang multiple de Tukey à 5% (Année 2004-2005)	72
Tableau 4-7b Comparaison des moyennes des populations par le test de rang multiple de Tukey à 5% (Année 2005-2006)	72
Tableau 4-8a Coefficients de variation (%) des traits mesurés dans les sept populations (Année 2004-2005)	73
Tableau 4-8b Coefficients de variation (%) des traits mesurés dans les sept populations (Année 2005-2006)	74
Tableau 4-9 Test de Levene d'homogénéité de la variance intra-famille entre familles des 7 populations de quinoa. Les valeurs sont les probabilités que les variances intra-famille soient homogènes au sein de chaque population (les valeurs non significatives ($P > 0.05$) ne sont pas reportées)	77
Tableau 4-10 Statistiques descriptives et corrélations des différents traits morpho-phénologiques avec les deux premiers axes (CP1 et CP2) de l'analyse en composantes principales conjointe des deux années (n = 1400)	78
Tableau 4-11 Test de significativité des 12 descripteurs morpho-phénologiques observés sur les deux années d'étude	82
Tableau 4-12 Tableau de classification croisée des trois groupes de quinoa	83

Remerciements

Diversité des quinoas, diversité des disciplines, diversité des lieux, diversité des rencontres, diversité des apprentissages ... Cette thèse s'achève et commence par les indispensables remerciements pour tous ceux qui m'ont accompagnée, m'ont soutenue et m'ont aidée au long de ces années.

Je commencerai par remercier celui qui a permis la réalisation du travail, mon directeur de thèse, **Thierry WINKEL**. Il est certainement la personne «responsable» de cette formidable aventure, merci d'avoir encadré cette thèse qui t'a conduit jusqu'au pays de «*las últimas consecuencias*», pour ton soutien, ta disponibilité et pour les discussions scientifiques, personnelles et d'avoir pris le temps de m'accompagner dans les méandres de l'investigation scientifique, je ne pourrai jamais assez te remercier. «*Por todas las risas y miedos compartidos. Sé que no habría sobrevivido los desafíos de ser un estudiante de doctorado sin tu presencia, y haber podido establecer una amistad que aguanta, superando el espacio y el tiempo. Muchas gracias*».

Je suis également reconnaissant à Monsieur le professeur **Grégory MAHY**, qui m'a encadrée, a suivi toutes les étapes du travail et m'accepte au **Laboratoire d'Écologie** de la **Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux (FUSAGX)**. Merci pour l'intérêt marqué, les éclaircissements et les encouragements apportés durant ces années, sa confiance et surtout la patience face à mes limites et mes habituels retards.

À **Richard JOFFRE** qui s'est énormément impliqué à la fin de la thèse dans l'encadrement «muchas gracias». J'ai beaucoup apprécié et je me souviendrai toujours de nos fructueux et sincères échanges. Gracias por tu amabilidad, practicidad, alegría, amistad et aussi pour avoir accepté d'être le rapporteur de la thèse. Merci à **Jean Pierre RAFFAILLAC** et **Nicolas GERMAIN** pour toutes les discussions que nous avons eues sur la quinoa... .

Un grand merci à l'**Institut de Recherche pour le Développement (IRD)** pour la bourse de formation du doctorat, ce travail a bénéficié des appuis financiers du **Département Soutien & Formation (DSF)** et de l'unité «**Climat et Fonctionnement des Agro-écosystèmes (UR 060 de l'IRD (France))**», aussi bien al **Instituto Francés de Estudios Andinos (IFEA)** au début de la thèse grâce à **Jean VACHER** dans ce moment il a été le directeur. Maintenant le directeur du IRD à La Paz comme toujours un grand merci pour l'amitié et ton aide de toujours, il n'y a pas de mot pour te remercier (gracias jefe de siempre).

Aux amies du laboratoire d'**Écologie** et **Phytotechnique Tropical**, à **Jean Philippe BIZOUX** pour m'avoir transmis des connaissances en génétique moléculaire, une tâche très difficile et pour m'avoir aidé lors de chaque séjour à Gembloux, et aussi à tous au labo de ce moment : **Anne-Christine**, **Layla**, **Manu**, **Marie-Solange**, **Nora**, **Kasso** et **Emile**. A **Olivier**, **Liliam** et **Raúl BLAS** (gracias por la cultura), comment oublier **Gaétan** qui a été la clef du travail au labo, merci beaucoup. A **Silué** merci pour... . A mi amiguita **Jacqueline MALDONADO** por la acogida, «su estudio», las comidas y la amistad.

Cette thèse est indissociable de Gembloux et de tous ceux dont j'ai eu la chance de croiser la route. Merci beaucoup Monsieur **MALAISSE** pour avoir cru en moi. Je n'oublie pas Madame **Anne WILLOQ**, Monsieur **Thierry HENCKAERTS**, **Michelle MOREAU**, **François DECAMP** et le personnel de la bibliothèque de Gembloux, aprovecho también en agradecer a las bibliotecarias de la Facultad de Agronomía en La Paz.

Gracias a **Juan Peter**, **Juan Americo**, **Jorge**, **Claudia**, **Yola**, **Juan Pablo** y **Hernan** los quineros del **CLIFA**. Muchas gracias **Juan José VICENTE**, por las discusiones provechosas sobre los métodos estadísticos que manera de trabajar y claro por la amistad. **Victor Hugo** gracias por el arte. A todas las chicocas del IRD-La Paz, **Cecilia** gracias por la lectura, **Elsita**, **Nigma**, **Liliam** y **Rocio** gracias por ser tan amables y educadas siempre listas para ayudar.

Je remercie de tout cœur les agriculteurs de l'Altiplano pour leur générosité indéfectible, leur chaleur et leur hospitalité. Ils ont partagé leur savoir, leurs grains et leur temps avec nous. Je remercie tout particulièrement les techniciens (amis pour la vie) pour leur aide lors des prospections réalisées sur tout l'Altiplano, du nord au sud avec un petit crochet dans des vallées interandines, ils sont trop nombreux pour les citer tous, mais je pense à tous ceux qui ont participé à cette étude ou qui ont partagé notre vie dans l'Altiplano.

Mes remerciements vont également à **Faculté d'Agronomie**, **l'École Supérieur Technique de Viacha** et la Station Expérimentale de Choquenaira appartenant à la **Universidad Mayor de San Andrés (U.M.S.A., La Paz – Bolivie)**, **l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD à La Paz)** et **l'Université de Gembloux (Belgique)** qui m'ont offert des facilités au seins de leur champs et leur laboratoires respectifs et je leur renouvelle mes sincères remerciements.

Je remercie Monsieur le recteur **A. THEWIS**, Monsieur le Professeur **Jean Pierre BAUDOIN** qui m'a fait l'honneur d'être rapporteur de la thèse malgré leur très nombreuses occupations. Un remerciement particulier à Monsieur le Professeur **P. DU JARDIN** et Monsieur le Professeur **G. MERGEAI** qui ont bien voulu accepter d'être membres du jury.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux familles qui m'ont accueillie lors de tous mes séjours en Belgique, d'abord à **Yvonne LAMOTE**, merci pour l'amitié de toujours, à **Marcel et Marie-Rose LECERF-LAZAR**, il n'y a pas de mot pour vous remercier, sans vous jamais je n'aurai pu franchir cette étape de ma vie, vous serez toujours dans mon cœur et finalement à la famille **GEERTS**, un grand merci, pour les trois familles un immense remerciement.

Muchas gracias **Sam** por todas las horas de trabajo, charlas, lindos momentos compartidos y la gran amistad que se ha construido gracias a unos datos meteorológicos y la quinuita que grano más «roquero».

Finalmente agradecer a mi familia que son lo más importante en mi vida, los quiero mucho.

CHAPITRE 1
INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 Problématique générale

L'écologie et la biologie évolutive s'intéressent depuis longtemps à l'hétérogénéité et à la diversité. Des patrons spatiaux et temporels plus ou moins complexes sont produits par la combinaison des perturbations naturelles et des caractéristiques physiographiques du milieu et déterminent l'intensité des flux de matière, d'énergie et d'information dans les écosystèmes. Mais dans les écosystèmes cultivés, les contraintes environnementales peuvent être délibérément manipulées, contrôlées ou évitées, ce qui modifie leur intensité, leur durée et leur extension spatiale. La structure spatiale des écosystèmes interagit avec leur fonctionnement, lequel correspond à des processus couvrant toute une gamme d'échelles, depuis la cellule jusqu'au globe (Urban *et al.* 1987, O'Neill 1989). Les dernières décennies ont vu des avancées significatives dans la compréhension des processus aux deux extrémités de cette gamme d'échelles, notamment grâce aux progrès des techniques de mesures biophysiques et de télédétection (Mooney *et al.* 1987, Mooney 1991). Mais la compréhension des processus liant diversité spatio-temporelle et fonctionnement des agro-écosystèmes aux échelles intermédiaires de la parcelle, du paysage et de la région, reste incomplète ce qui rend difficile la formulation de stratégies de gestion assurant la durabilité des services que les sociétés humaines retirent de l'agriculture. Ces lacunes résultent non seulement des difficultés techniques pour obtenir des mesures et expérimenter à ces échelles intermédiaires, mais aussi du manque d'études intégrées du problème et de l'accent généralement mis au préalable sur une discipline spécifique. Le modèle "adaptationniste" prônant une spécialisation étroite des écotypes et des variétés par rapport à leur niche écologique a pu également constituer un frein à la compréhension du fonctionnement des écosystèmes aux échelles intermédiaires (Mayr 1983, Linhart & Grant 1996). Dans ce contexte, les écosystèmes cultivés offrent un cadre propice à la réalisation d'expérimentations sur une échelle large (p.ex. Zhu *et al.* 2000). Leur relative simplicité les rend également favorables à la transdisciplinarité et aux applications avancées de l'étude des systèmes complexes. Enfin, des travaux récents sur des agro-écosystèmes très diversifiés ont remis en cause le modèle adaptationniste, montrant que leur stabilité face aux perturbations environnementales reposait au contraire sur la grande "versatilité écologique" des espèces qui y étaient cultivées (Zimmerer 1998, 2003).

Par ailleurs, on assiste, à l'échelle mondiale, à une prise de conscience de l'importance et de la fragilité de la biodiversité agricole, et le développement de stratégies de conservation est reconnu comme une priorité. La conservation de la diversité agricole peut se concevoir à différents niveaux, depuis les gènes et les organismes, jusqu'aux espèces et aux écosystèmes. C'est en effet autour de cette conception hiérarchique de la biodiversité que s'articulent les approches complémentaires de la conservation (Saad 2002). Les principales menaces pesant sur la biodiversité résultent de l'activité anthropique. Elles comprennent la destruction, la fragmentation et la dégradation des habitats, la surexploitation des espèces, l'introduction d'espèces ainsi que la dissémination des maladies (Primack 1998, Olivieri & Vitalis 2001). Au-delà des dimensions esthétiques et éthiques, la conservation de cette diversité agricole doit être justifiée en termes utilitaires et fonctionnels, en se référant aux services apportés par les agroécosystèmes aux sociétés humaines ("*ecosystem services*", Western 2001).

Les écosystèmes sont à l'origine de biens et services produits et utilisés par les sociétés humaines, dont l'agriculture est reconnue comme une composante essentielle. Mais, en plus de la production d'aliments, de textiles et de matériaux divers, les agro-écosystèmes ont d'autres fonctions : fonction d'épuration, de renouvellement des ressources, de conservation de la biodiversité, de régulation des climats, dont l'importance à long terme pour la durabilité de notre environnement et de ses capacités productives commencent seulement à être prises en compte. Les changements globaux, de régime climatique et de mode d'utilisation des ressources naturelles, ont déjà commencé à perturber le fonctionnement des écosystèmes.

L'Altiplano bolivien constitue un terrain idéal pour l'étude des relations entre diversité fonctionnelle et contraintes climatiques parce qu'il est le centre d'origine de nombreuses espèces cultivées et que les contraintes abiotiques y sont fortes. Les agriculteurs y ont développé une agriculture caractérisée par: i) la sélection et l'usage de cultures tolérantes à la sécheresse et au gel, ii) l'utilisation d'une grande diversité d'espèces et de cultivars pour une culture donnée, et iii) des pratiques culturelles traditionnelles orientées vers la prévention des risques climatiques à l'échelle de la parcelle et de la communauté (Vacher 1998). En Bolivie, une des cultures traditionnelles des régions d'altitude est la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)*, pseudo-céréale caractérisée pour une forte résistance à la sécheresse et au gel, et une grande diversité à l'échelle régionale et parcellaire.

1.2 Le système Altiplano - quinoa

L'Altiplano bolivien, vaste plateau de plus de 5 millions d'hectares situé à une altitude moyenne de 4000 m, est, en dépit de fortes contraintes pédoclimatiques (Le Tacon *et al.* 1992, François *et al.* 1999), l'une des principales régions agricoles du pays. Tout comme en Équateur et au Pérou, les espèces cultivées traditionnelles (quinoa : *Chenopodium quinoa*, kañahua : *Chenopodium pallidicaule*, pomme de terre : *Solanum ssp* et oca : *Oxalis tuberosa*, par exemple) y jouent un rôle important dans les systèmes de production et l'alimentation des populations rurales. Mais les hauts plateaux andins et les vallées inter-andines, centres primaires de diversité génétique pour ces espèces, connaissent depuis une vingtaine d'années une perte sensible de biodiversité agricole, spécialement des espèces marginales et négligées par les institutions de recherche agronomique. Parmi celles-ci la quinoa revêt une grande importance culturelle et économique, notamment en Bolivie où cette pseudo-céréale est cultivée depuis des milliers d'années (León 1964, Cárdenas 1969) et où diverses institutions (e.g., Fondation PROINPA, Facultés d'Agronomie des Universités Publiques de La Paz et Oruro) détiennent la banque de germoplasme la plus importante du monde pour cette espèce (plus de 2700 accessions à ce jour). Les caractéristiques morphophénologiques et les usages alimentaires de la quinoa montrent une grande diversité de variétés ou écotypes locaux (National Research Council 1989). Son adaptation aux difficiles conditions de production des hauts plateaux (sécheresse, gel, grêle, salinité et pauvreté des sols) et les qualités nutritives de ses grains, riches en protéines et sels minéraux, en font une culture primordiale pour la sécurité alimentaire des populations locales en même temps qu'une source de revenus par la vente en milieu urbain et l'exportation vers les pays voisins ou les

* selon le dictionnaire français le mot « quinoa » est masculin, mais le féminin est également admis dans la mesure où il correspond au genre de ce mot en espagnol et en quechua.

circuits du commerce équitable. Mais, depuis une quinzaine d'années, le succès de la quinoa de type Real sur le marché international et la concurrence avec d'autres produits alimentaires (pâtes, riz, etc.) sur le marché interne seraient la cause d'une forte érosion génétique de cette culture, particulièrement dans la zone altiplanique (Laguna 2002).

L'Altiplano bolivien connaît des contraintes climatiques qui se caractérisent par des périodes de températures basses et un manque de pluie l'été. Ces deux facteurs ont pour conséquence l'impossibilité d'arriver à un approvisionnement acceptable en ressources agricoles. Face à ces fortes contraintes climatiques les paysans de l'Altiplano ont développé une agriculture spécifique reposant sur une stratégie de réduction des risques de sécheresse et de gelées (Morlon 1992, Vacher 1998). Mais les changements actuels liés à la pression démographique et foncière, et à la mondialisation du commerce posent des problèmes nouveaux : érosion des sols accélérée par la mécanisation des pratiques de culture, érosion génétique liée aux exigences de standardisation commerciale, risques climatiques nouveaux et compétition foncière dû à l'expansion de la frontière agricole, déséquilibres sociaux induits par la répartition inégale des revenus commerciaux et le développement de logiques individualistes. C'est donc la durabilité de l'agrosystème quinoa dans ses trois composantes de durabilité écologique, viabilité économique et équité sociale qui est menacée, et en particulier dans l'Altiplano sud de Bolivie où c'est la culture dominante.

Depuis une trentaine d'années, de nombreuses recherches sur la quinoa se sont attachées à décrire séparément la botanique, la génétique et l'amélioration variétale, la physiologie et l'adaptation au milieu, les caractéristiques agronomiques, les systèmes de production et les filières de commercialisation (Cardenas 1944, Espindola 1980, Gandarillas 1982, Bertero 2001, Bertero *et al.* 1999a, Bertero *et al.* 1999b, Bertero *et al.* 1996, Garcia 1999, Garcia 2003, Bonifacio 1992a, Bonifacio 1992b, Canahua 1992, Catacora & Canahua 1992, Choquecallata *et al.* 1992, Danielsen & Ames, 2000, Dizes 1992, Gamarra *et al.* 2001, Gandarillas 1979a, Garcia *et al.* 2003, Jacobsen 1998, Jensen *et al.* 2000, Laguna 2002, 2003, Morlon 1992, Mujica *et al.* 2001, Nieto *et al.* 1998, Tapia *et al.* 1979, Vacher 1998). Cette multiplicité d'approches sectorielles est inappropriée quand il s'agit d'aborder une question complexe comme celle du rôle de l'agrodiversité dans la stabilité de production agricole face aux aléas climatiques. Notre hypothèse méthodologique est qu'une approche multi-échelles, allant de l'individu au peuplement et à la région peut permettre d'éclairer efficacement cette question.

1.3 Objectifs

La présente étude a pour objectif général de comprendre les relations entre l'agrobiodiversité et la stabilité du fonctionnement des agro-écosystèmes de quinoa face aux perturbations naturelles. L'agrodiversité est définie ici comme la combinaison de l'hétérogénéité – naturelle ou entretenue – du milieu physique avec la diversité des populations – cultivées ou non – qui s'y trouvent (De Steenhuijsen Piters 1995).

L'objectif spécifique du travail est d'établir une méthode d'analyse du fonctionnement agro-écologique qui intègre les connaissances sur la biologie des individus et des populations et considère explicitement les interactions avec les perturbations du climat et les interventions humaines.

L'étude a pour but de contribuer à une meilleure connaissance de l'écogéographie de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en prenant en compte l'agrobiodiversité à l'échelle de la région, de la parcelle et des individus composant les populations à travers trois axes de recherche complémentaires : 1) l'agrobiodiversité et l'interaction avec les perturbations du climat, 2) la diversité phénotypique et la tolérance au froid et 3) la structure de la diversité génétique.

1.4 Organisation de la thèse

Après cette introduction générale, le chapitre 2 détaille le contexte théorique de la recherche et le cadre biophysique de l'Altiplano bolivien et de la culture de quinoa. Les trois chapitres suivants présentent les résultats originaux de la recherche :

- Caractérisation de la diversité génétique de populations de quinoa de l'Altiplano bolivien à l'aide de marqueurs moléculaires RAPD.
- Caractérisation de la variation phénotypique intra- et inter- population au sein de populations de quinoa de l'Altiplano bolivien.
- Relations entre croissance, hétérogénéité et réponse des plantes aux basses températures chez deux variétés de quinoa de l'Altiplano bolivien.

Enfin, le dernier chapitre présente les conclusions générales auxquelles nous sommes arrivées et les perspectives de recherche.

CHAPITRE 2
PRÉSENTATION GÉNÉRALE DU CADRE BIOPHYSIQUE
ET THÉORIQUE DE L'ÉTUDE

2.1 Cadre physique

2.1.1 Généralités et situation géographique

La Bolivie présente de somptueux paysages andins : depuis les hautes plaines sèches parsemées de lacs immenses jusqu'aux étendues salines éblouissantes sous un ciel pur, depuis les grands cônes volcaniques de la Cordillère Occidentale qui longe la frontière chilienne jusqu'aux glaciers de la Cordillère Orientale dominant les plateaux fauves de la "puna" et les séparant des plaines alluviales et des étendues monotones du bassin amazonien (Montes de Oca 1997). Elle se caractérise par la présence d'une grande variété de formes physiographiques et géologiques, ainsi que de conditions climatiques qui se traduisent par une extrême diversité écologique. Elle constitue ainsi un "concentré" de toute l'Amérique du Sud, faisant dire au naturaliste français Alcide d'Orbigny, qui la parcourut entre 1826 et 1833, que l'on pourrait à partir de cette diversité reconstituer pratiquement tous les écosystèmes du monde.

La Bolivie occupe la partie centrale occidentale de l'Amérique du Sud. Elle est comprise entre 9° 38' et 22° 53' de latitude sud et 57° 30' et 69° 40' de longitude ouest. De par cette localisation, elle se situe à la fois dans les régions tropicale, subtropicale et tempérée. Sa superficie est de 1 098 581 km², (c'est le cinquième plus grand pays sud américain). Elle est limitée au nord et à l'est par le Brésil, au sud-est par le Paraguay, au sud par l'Argentine, au sud et sud-ouest par le Chili, et à l'ouest par le Pérou (Figure 2-1). Elle ne possède pas d'accès à la mer. La population totale est de 8 597 000 habitants (INE 2002). L'indice humain de développement est de 0.584 sur une échelle de 0 à 1. C'est la valeur la plus basse de l'Amérique méridionale (PNUD 2004).

On divise généralement la Bolivie en trois grandes zones (Figure 2-2) : 1) à l'ouest, les hautes altitudes des Cordillères et de l'Altiplano, au climat aride et froid, caractérisées par une végétation steppique et de toundra, 2) une zone de transition centrale où, dans les vallées tempérées à tropicales, se cultivent maïs, luzerne, etc. et 3) les plaines et les bas plateaux de l'est au climat tropical humide recouverts de forêts et de savanes.

L'Altiplano est une région d'altitude qui couvre environ 191 000 km² et s'étend sur 900 kilomètres du nord au sud avec une largeur d'environ 200 kilomètres. C'est un système endoréique, constitué d'une série de plateaux dont les altitudes vont de 3400 à 4100 m, et que bordent des cordillères dont les sommets avoisinent les 6000 m (le point culminant, le Mont Sajama, atteint 6542 m). Il est généralement subdivisé en trois régions : Altiplano nord, centre et sud, et héberge plus d'un quart de la population rurale de la Bolivie.

Depuis les périodes pré-coloniales, cette région est une des plus importantes zones agricoles du pays avec des systèmes de production traditionnels particulièrement adaptés à la haute montagne mais également capables de répondre, aujourd'hui, aux mutations économiques du changement global. La quinoa en donne certainement l'exemple le plus manifeste.

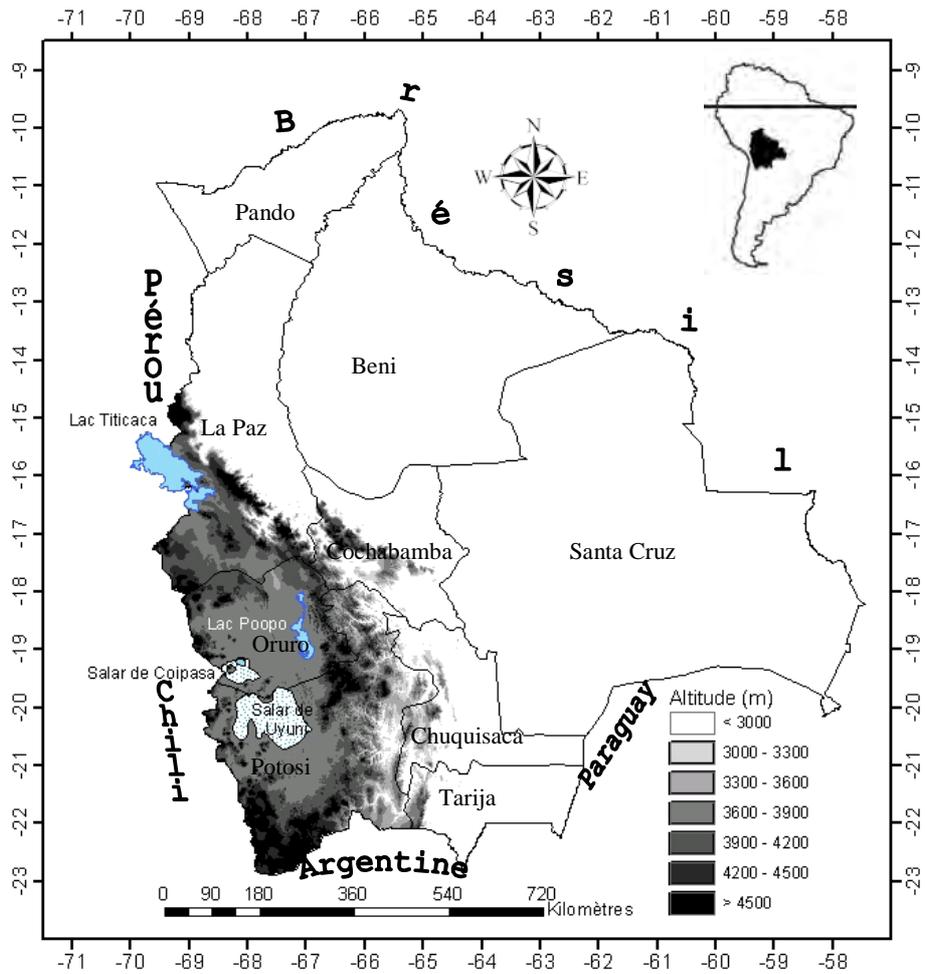


Figure 2-1 Carte de localisation de la Bolivie.

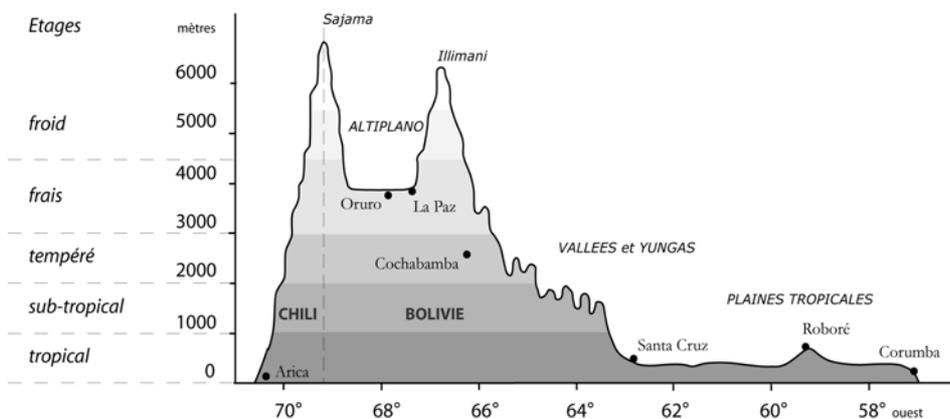


Figure 2-2 Profil physiographique de la Bolivie montrant ses trois zones écologiques principales : Altiplano, vallées d'altitude et plaines tropicales (d'après Montes de Oca 1997).

Cependant, les contraintes climatiques et pédologiques (Orsag, 1989 et 1992, FAO 1997, Bosque *et al.* 2003) sont fortes et limitent la production végétale. Les rendements y sont en général très bas, l'utilisation d'intrants exceptionnelle, et la pratique de la jachère courante. La production est principalement destinée à l'autoconsommation. Il s'agit de produits originaires des Andes (pommes de terres amères et douces, autres tubercules et racines andines, quinoa, produits de l'élevage de lama et alpaca) ou introduits après la conquête espagnole (fève, orge, avoine, produits de l'élevage de bovins, ovins, volailles, porcins...).

2.1.2 Caractéristiques des écosystèmes de la zone d'étude

En Bolivie, la quinoa est cultivée sur les trois sous régions de l'Altiplano: nord, centre et sud, ainsi que dans les vallées inter andines des départements de Cochabamba et de Potosi (Tableau 2-1). Deux zones présentent une importance particulière pour cette culture : les alentours du Lac Titicaca où la diversité variétale est très importante, et la région située autour des Salars d'Uyuni et de Coipasa (zone intersalar et Nord Lipez) où la production est essentiellement orientée vers le marché d'exportation.

Tableau 2-1 Caractéristiques des principales régions de production de quinoa (d'après Montes de Oca 1997).

Caractéristiques	Altiplano nord	Altiplano central	Altiplano sud	Vallée inter andine
Localisation	Département de La Paz, influencée par les caractéristiques du lac Titicaca, à 3810 m d'altitude.	Partie sud du département de La Paz et une grande partie d'Oruro, entre 3000 y 3600 m d'altitude.	Partie sud du département d'Oruro et l'ouest de Potosí, à plus de 3600 m d'altitude.	Partie est du département de La Paz et nord de Potosí. à plus de 2700 à 3400 m d'altitude.
Superficie totale	18475 km ²	16500 km ²	80600 km ²	10265 km ²
Principales cultures	Pomme de terre, oca, maïs d'altitude, fève, petit pois, tarwi (lupin), quinoa, cañahua, fourrages et légumes.	Pomme de terre, quinoa, cañahua, orge, avoine, fourrages et légumes.	Quinoa, pomme terre, orge et fourrages.	Pomme de terre, maïs d'altitude, fève, blé, orge, quinoa, fourrage, légumes et fruits.
Caractéristiques générales de la production agricole	En dépit des contraintes climatiques et de la pauvreté du sol, les alentours du lac Titicaca sont une zone d'élevage bovin (lait et viande). La quinoa et souvent en rotation avec la pomme de terre et l'orge.	Zone où l'élevage de camélidés, ovins et bovins est important et contribue fortement à la production nationale de viande, fibres et cuir. La matière organique animale (guano) est en partie utilisée comme engrais pour la culture de quinoa.	Principale zone de production de la quinoa d'exportation (Quinoa Real), malgré les fortes contraintes climatiques (déficit hydriques et gelées) et pédologiques.	Cette région a une vocation d'agriculture intensive, souvent irriguée.

2.1.3 Caractéristiques climatiques

Les conditions climatiques générales en Bolivie sont très variées ; celles-ci dépendent fondamentalement de la latitude et de l'altitude. Il existe un gradient de précipitation nord-sud. Dans

les basses plaines, les quantités annuelles de pluie varient de 600 mm dans la région du Chaco (sud), à 2000 mm dans celle du Pando (nord). Sur le haut plateau, la pluviométrie varie de 200 mm sur les salars d'Uyuni et Coipasa (sud) à 800 mm près du lac Titicaca (nord). La distribution des températures moyennes varie principalement avec l'altitude : 25 °C dans les plaines, 18 °C dans les vallées, et 10 °C sur le haut plateau. Dans les hautes montagnes tropicales, les gradients bioclimatiques se manifestent dans l'étagement marqué de la végétation sur les versants. Les variations de température y sont plus marquées dans la journée que dans l'année (climat journalier).

L'Altiplano est situé dans la région subtropicale tempérée des hautes terres selon la classification de zones de vie de Holdridge (Montes de Oca 1997). Son climat est caractérisé par: a) une saison sèche d'hiver austral (mai à octobre) et une saison humide concentrée sur les mois d'octobre à avril correspondant à la période de culture, b) une forte radiation ultra-violette et des valeurs de radiation globale élevées conduisant à une forte demande évaporative de l'atmosphère et des hauts niveaux d'évapotranspiration potentielle (Vacher 1989), c) des amplitudes journalières de température élevées, de 15 à 20°C qui peuvent aller de -26 à +25 °C dans la même journée (enregistré à Uyuni en août 1946), d) des risques importants de gel pendant la saison de culture, et enfin par e) des grêles de forte intensité (Tableau 2-2).

Tableau 2-2 Principales caractéristiques climatiques des régions productrices de quinoa en Bolivie (source : données du service bolivien de météorologie, SENAMHI).

Région écologique	T max. moy. annuelle (°C)	T moy. annuelle (°C)	T min. moy. annuelle (°C)	P (mm/an)	Jours de gelées/an	Autres
Altiplano nord	15.0	7.7	-4.0	548 – 845	170	Grêle
Altiplano centre	17.0	5.7	-4.0	255 – 480	217	Grêle et neige
Altiplano sud	18.0	9.0	-11.0	125 – 297	199	Grêle et neige
Vallée inter-andine	16.0	10.6	-4.0	589 – 894	142	Grêle

Les contraintes climatiques particulières aux hauts plateaux andins ont été étudiées par de nombreux auteurs en Pérou et en Bolivie (voir en particulier Frère *et al.* 1975, Vacher 1989 et 1998, Le Tacon 1989, Morlon 1992, Michel 1997, François *et al.* 1999, Garcia 2003, Geerts 2004, Geerts *et al.* 2006). Les facteurs limitants les plus importants sont les gelées radiatives présentes pratiquement tout au long de l'année (Vacher 1989), l'occurrence de sécheresse à n'importe quel moment du cycle agricole, la fréquence élevée des précipitations sous forme de grêle (Birhuet 1992, Le Tacon *et al.* 1992, Du Portal 1993, François *et al.* 1999).

La moyenne annuelle des précipitations sur l'Altiplano varie de 800 mm au nord, autour du Lac Titicaca, jusqu'à moins de 200 mm à son extrémité sud (Figure 2-3 et Tableau 2-3). Les trois principaux facteurs influençant le début, la durée et l'intensité de la saison des pluies sont le déplacement de la Zone Inter Tropicale de Convergence, la présence du lac Titicaca et l'oscillation méridionale d'El Niño (ENSO). Le phénomène ENSO, à l'origine d'une forte variabilité inter-annuelle des précipitations et de l'évapotranspiration, constitue un risque important pour la production végétale (Vuille 1999, Garreaud *et al.* 2003).

Tableau 2-3 Précipitation annuelle de 39 stations climatiques de l'Altiplano bolivien.

Station	Latitude (degrés décimaux)	Longitude (degrés décimaux)	Altitude (m)	Précipitation annuelle (mm)	Période de mesure
Département de La Paz					
Ayo ayo	-17.08	-68.00	3856	405	1983 – 2002
Calacoto	-17.28	-68.63	3805	399	1983 – 2002
Calamarca	-16.90	-68.13	3954	432	1983 – 2001
Caquiaviri	-17.02	-68.60	3800	505	1992 – 2001
Charaña	-17.58	-69.43	4054	305	1983 – 2002
Collana	-16.90	-68.33	3940	589	1983 – 2002
Comanche	-16.95	-68.92	4055	484	1983 – 2002
Copacabana	-16.13	-69.07	3843	784	1951 – 1975
Desaguadero	-16.57	-69.05	3803	582	1983 – 2002
El Alto	-16.52	-68.18	4038	617	1953 – 1990
El Belen	-16.07	-68.67	3820	467	1983 – 2000
Huarina	-16.20	-68.63	3825	561	1984 – 2002
Ichucota	-16.17	-68.37	4460	719	1978 – 1990
Isla Del Sol	-16.17	-69.15	4027	845	1983 – 2002
La Paz	-16.47	-68.12	3632	536	1980 – 2000
Patacamaya	-17.25	-67.92	3789	422	1983 – 2000
Puerto Acosta	-15.52	-69.25	3835	781	1990 – 2002
Santiago de Machaca	-17.07	-69.20	3980	480	1991 – 2000
Sica Sica	-17.37	-67.75	3820	511	1983 – 2003
Tiahuanacu	-16.55	-68.68	3629	572	1983 – 2000
Viacha	-16.65	-68.30	3850	524	1984 – 2000
Département d'Oruro					
Caracollo	-17.63	-67.22	3770	270	1983 – 1990
Chuquiña	-17.80	-67.45	3775	292	1951 – 1975
Eucaliptus	-17.60	-67.52	3728	424	1953 – 1983
Oruro	-17.97	-67.07	3702	396	1983 – 2002
Sajama	-18.13	-68.98	4220	277	1975 – 1981
Salinas de Garci Mendoza	-19.63	-67.68	3860	280	1998 – 2004
Tacagua	-18.88	-66.78	3720	377	1961 – 1990
Département de Potosi					
Calcha de Lipez	-21.02	-67.57	3670	161	1983 – 1991
Chaqui	-19.58	-65.57	3550	507	1982 – 1997
Julaca	-20.92	-67.57	3665	143	1970 – 1986
Colcha K	-20.73	-67.67	3700	196	1983 – 2001
Llica	-19.85	-68.25	3650	125	1991 – 1998
Potosí	-19.38	-65.75	4060	379	1993 – 2002
Puna	-19.78	-65.50	3420	435	1983 – 2001
Rio Mulatos	-19.68	-66.77	3815	223	1983 – 1995
Tomave	-20.10	-66.57	3920	307	1983 – 1987
Uyuni	-20.47	-66.83	3669	185	1984 – 2001

Les dégâts provoqués par les gelées aux cultures sont plusieurs fois mentionnés dans les textes historiques depuis l'époque coloniale. La fréquence de cet événement climatique et ses conséquences font peser un risque permanent sur la production agricole. Les gelées nocturnes sur l'Altiplano sont provoquées principalement par un bilan radiatif négatif au niveau du sol et des organes végétaux. Le refroidissement nocturne peut entraîner selon son intensité et le stade de développement des cultures la mort des tissus végétaux (Vacher 1989). Les gelées sont très fréquentes de mai à septembre (très forte radiation) puis diminuent à partir du mois d'octobre, permettant les semis. Aux mois d'avril-mai (époque de récolte), les gelées nocturnes redeviennent un risque important. Il faut cependant signaler que le risque de gelée est non négligeable tout au long du cycle cultural.

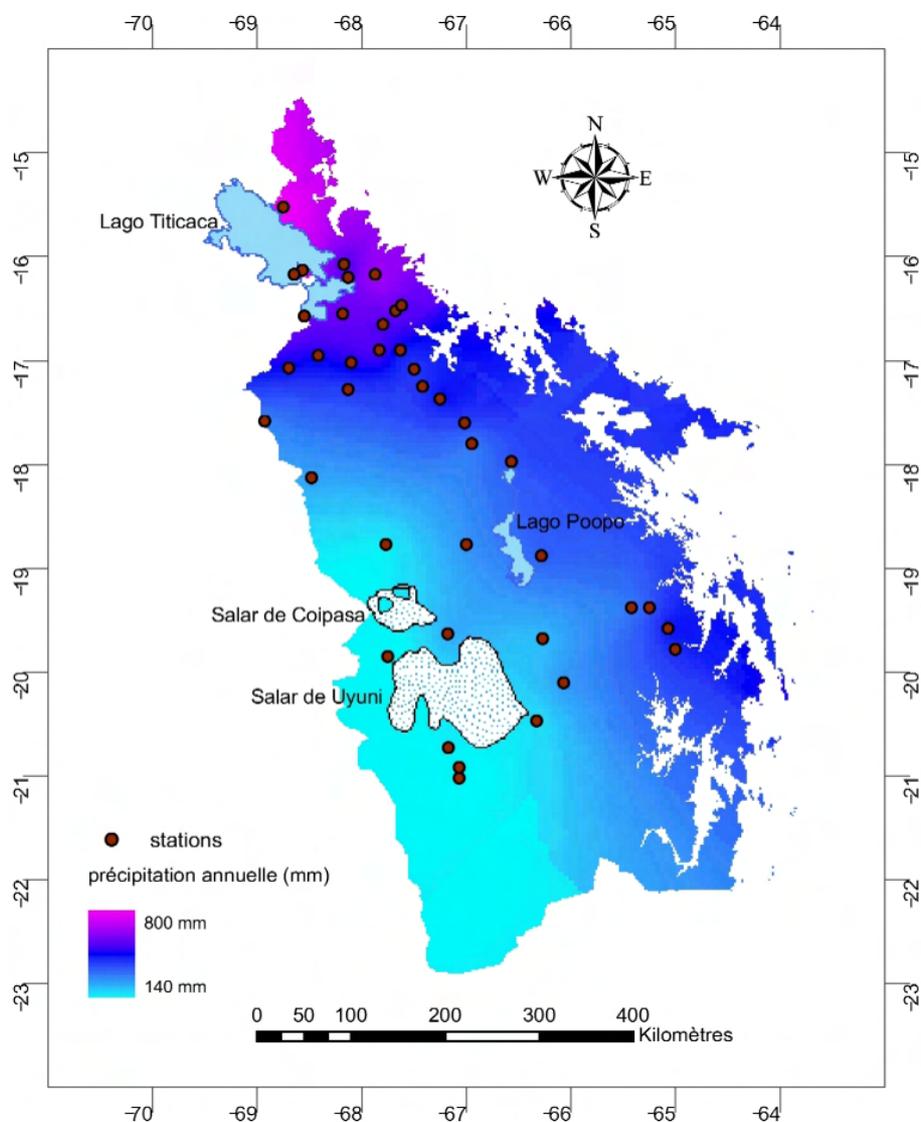


Figure 2-3 Carte des précipitations moyennes annuelles dans l'Altiplano bolivien (d'après Geerts *et al.* 2006).

2.2 Description de la culture de quinoa

2.2.1 Origine et distribution géographique

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) est une plante herbacée de la famille des Chénopodiacées, largement répandue géographiquement, et qui présente des caractéristiques singulières dans sa morphologie, sa coloration et son comportement dans différentes zones agro-écologiques. La faculté d'adaptation de l'espèce est très grande puisqu'on peut la cultiver depuis le niveau de la mer au Chili, jusqu'à plus de 4000 m d'altitude sur l'Altiplano boliviano-péruvien, sous des climats allant du froid aride jusqu'au tropical humide (Figure 2-4). Elle est tolérante à des facteurs abiotiques comme la sécheresse, les radiations UV, le gel et la salinité des sols, ce qui en a fait une espèce candidate pour les tests de culture en station orbitale (Tapia *et al.* 1979, FAO 2001, Bruno & Whitehead 2003).

Cette pseudo-céréale dont la domestication remonte à 7000 ans environ (Mujica *et al.* 2001) a été cultivée et consommée pendant des siècles par les populations paysannes indigènes de Colombie, Équateur, Pérou, Bolivie et Chili (Gandarillas 1979a). "Quinoa" est un mot quechua identifiant une plante annuelle à feuilles triangulaires et panicules composées. Grâce à ces générations d'agriculteurs le matériel génétique de cette espèce, comme celui d'autres plantes cultivées, a pu être conservé, avec les caractéristiques propres de ce que l'on pourrait appeler un système de conservation adéquat *in situ* (Tapia 2002). Depuis une quinzaine d'année et principalement en Bolivie, la quinoa est aussi devenue l'objet d'une culture d'exportation à destination des pays du nord (Europe, États-Unis, Canada, Japon) à la recherche d'aliments issus de l'agriculture biologique et à haute valeur nutritive. L'acclimatation de cette culture aux pays nordiques a été tentée, mais elle butte sur la sensibilité de la plupart des variétés au photopériodisme (la quinoa ne fleurit généralement pas en jours longs) et sur la qualité médiocre des variétés « adaptables » en comparaison des produits obtenus dans les pays andins.

2.2.2 Description botanique

La quinoa est une dicotylédone autogame annuelle. Elle comporte une racine pivotante, qui dans le processus initial de germination est le premier organe à se développer après quelques heures d'humectation. Sa croissance est en rapport étroit avec celle de la partie aérienne, des plantes de 1.70 m pouvant développer une racine de 1.50 m (Tapia *et al.* 1979, Izquierdo *et al.* 2001).

La tige, cylindrique au niveau du collet et anguleuse plus haut, peut atteindre une taille de 0.5 à 2 m selon la variété et les conditions de croissance, les quinoas des vallées ou des zones protégées et fertiles étant plus grandes que celles qui poussent au-delà de 4000 m, ou celles des zones froides (Gandarillas 1979b, Cáceres 1993, Mujica & Jacobsen. 1999). En fonction du développement de la ramification, on peut trouver des plantes avec une tige principale développée et quelques tiges latérales très courtes dans les écotypes de l'Altiplano, ou des plantes avec des tiges de taille égale dans les écotypes des vallées, avec toutes les variantes intermédiaires. Ce développement de l'architecture de la plante peut être partiellement modifié par la densité de semis de la culture.

La moelle de la tige a une texture tendre chez les jeunes plantes, qui devient spongieuse et creuse à maturité, avec une écorce ferme et compacte. La couleur de la tige est variable selon le type de quinoa.



Figure 2-4 Distribution géographique de la culture traditionnelle de quinoa en Amérique du Sud (la densité des points reflète l'importance relative de la culture) (d'après National Research Council 1989).

Les feuilles présentent différentes longueurs dans une même plante. Celles de la tige principale sont plus longues que celles des ramifications. Les feuilles, alternes, ont un limbe polymorphe, en forme de losange, de triangle ou lancéolé, plat ou onduleux, un peu épais, charnu et tendre. Le nombre de dents ou de lobes des feuilles serait une caractéristique variétale, les feuilles des quinoas de Bolivie et du sud du Pérou comptant peu de dents (Tapia *et al.* 1979). La couleur prédominante de la plante est verte, mais chez les plantes adultes les couleurs de base sont rouge, pourpre et vert, selon le génotype (Photo 2-1). L'endroit et l'envers des jeunes feuilles, ainsi que les tiges et les jeunes inflorescences sont couvertes de vésicules d'oxalate de calcium, qui sont des excroissances épidermiques de forme sphérique et de couleur blanche, pourpre ou rouge (Photo 2-2). Ces vésicules salines pourraient jouer un rôle important dans les relations hydriques de la plante, permettant son adaptation à la sécheresse (Dizès & Bonifacio 1992, Gandarillas 1982). Les travaux récents de Bois *et al.* (2006) ont montré qu'elles n'avaient pas de rôle protecteur vis-à-vis du gel, et l'on suppose actuellement qu'elles ont avant tout un rôle de protection contre les rayons du soleil.

La quinoa présente des fleurs hermaphrodites disposées en inflorescences en grappes, considérées comme de faux épis (panicules). Dans l'étape reproductrice de la quinoa, l'inflorescence est terminale et de longueur variable. Il en existe deux types : glomériforme et amarantiforme et, selon Gandarillas (1968), le type glomériforme serait la forme ancestrale ayant donné le second type par mutation. Les fleurs apétales (incomplètes) et très petites (3 mm au maximum), peuvent être hermaphrodites en position apicale ou pistillaires dans la région inférieure de la panicule, dans des proportions diverses selon la variété (Tapia *et al.* 1979, Izquierdo *et al.* 2001). En général la quinoa est une espèce autogame, avec environ 10% de pollinisation croisée (Rea 1969). Cependant, dans quelques variétés l'allogamie atteint jusqu'à 80%, ce qui est expliqué par la rareté des fleurs pistillaires (Izquierdo *et al.* 2001). Les descendants de deux générations d'autofécondation complète ont montré la même vigueur et productivité que leurs parents, c'est pourquoi l'on considère que ce type de reproduction n'affecte pas la culture et permet l'utilisation de techniques basées sur les plantes autogames pour l'amélioration génétique (Tapia *et al.* 1979, Izquierdo *et al.* 2001).

Le fruit est un akène, de forme cylindrique à lenticulaire, dans lequel l'embryon périphérique entoure le péricarpe central (tissus de réserve), et se trouve couvert par le péricarpe et deux assises tégumentaires (Prego *et al.* 1998). Le péricarpe contient de la saponine en plus ou moins grande quantité et, bien que chez certaines variétés (formes cultivées), il soit séparé facilement, dans d'autres (formes sauvages), il reste difficile à éliminer. La combinaison des couleurs du péricarpe et du tégument de la graine donne la vaste gamme de couleurs que peuvent présenter les panicules. Il existe trois formes de grain : coniques, cylindrique et ellipsoïdes. Les bords du grain sont d'une grande valeur taxonomique, car ils sont communément marqués chez les formes cultivées, et plus arrondis chez les sauvages (Tapia *et al.* 1979, Lescano 1994, Izquierdo *et al.* 2001).

La culture de quinoa montre une grande variabilité morphologique, concernant aussi bien les feuilles, que les panicules et les graines (Tapia *et al.* 1979, Pinto 2002). Les caractères morphologiques de port de la plante (ramification), forme de l'inflorescence (amarantiforme ou glomériforme), de la feuille et du grain sont les plus constants pour sa classification taxonomique. En revanche, la hauteur de la

plante, comme sa couleur et celle du grain, sont des caractéristiques beaucoup plus variables et, par conséquent, peuvent provoquer des erreurs dans la classification de variétés (Tapia *et al.* 1979).

2.2.3 Physiologie de la quinoa

La quinoa est une plante de type C3, parfois considérée de manière erronée comme peu efficace dans la fixation du carbone (Tapia *et al.* 1979). Au contraire, sous des températures modérées à froides comme celles de l'Altiplano bolivien, la photosynthèse de type C3 s'avère plus efficace que celle de type C4, les plantes C4 ne pouvant pas maintenir des niveaux de Rubisco aussi élevés que des plantes C3, ce qui limite leurs capacités photosynthétiques (Kubien & Sage 2004, Cabido *et al.* 1997). Les paramètres thermophysologiques, mesurés chez la quinoa en conditions contrôlées par Bois *et al.* (2006), donnent une température de base pour la germination nettement inférieure à celle de la plupart des cultures (2°C contre 10°C environ pour le maïs), ce qui indique également une bonne adaptation au climat froid de l'Altiplano. Les mêmes auteurs ont prouvé qu'aucune plante de quinoa ne pouvait survivre après 4 heures passées à -6°C, mais qu'aucun effet sérieux n'était observé à -4°C. Les exothermes de feuilles ont confirmé que la nucléation de glace se produit entre -5 et -6°C. Le faible contenu en eau de la feuille peut retarder la congélation, et les vésicules des feuilles ne semblent jouer aucun rôle, ni protecteur ni néfaste, dans la congélation des feuilles. L'absence d'association entre la sensibilité variétale et l'origine géographique des cultivars soutient l'idée que les agriculteurs andins s'accommodent des risques de gel par une diversité de cultivars plutôt qu'en adoptant une forme localement adaptée.

La fonction des vésicules riches en oxalate de calcium et en pigments présentes à la surface des jeunes feuilles et des inflorescences n'est pas encore éclaircie, mais on suppose qu'elles protègent la plante de l'excès de radiation solaire et l'aident à résister à la sécheresse en intervenant dans les relations hydriques ou en formant un microclimat autour des feuilles (Tapia *et al.* 1979, Mujica & Jacobsen 1999, Izquierdo *et al.* 2001). Face au stress hydrique, la quinoa montre un bon maintien de ses capacités photochimiques, ce qui explique la récupération rapide et complète de l'activité physiologique dès que l'alimentation en eau redevient normale (Bosque *et al.* 2003, Winkel *et al.* 2002). L'efficacité de la photosynthèse est particulièrement forte en phase juvénile ce qui soutient la vigueur initiale des plantes, favorise la capture de l'eau et par conséquent accroît la résistance à des phases ultérieures de déficit hydrique (Jensen *et al.* 2000). Les stomates de la quinoa ont une grande capacité de contrôle permettant de limiter les pertes d'eau, mais leurs possibilités d'ajustement osmotique sont réduites (Jensen *et al.* 2000). Mujica & Jacobsen (1999) signalent que la diminution du nombre de stomates est aussi une stratégie observée chez la quinoa pour réduire la transpiration foliaire. Si l'humidité du sol diminue trop, la plante arrête sa croissance, la tige devient fibreuse et le système racinaire se fortifie, permettant à la plante de résister jusqu'à 3 mois de sécheresse.

Dans ces mêmes conditions, le développement de la plante devient plus asynchrone, une partie de la panicule produisant des grains, tandis que d'autres fleurs continuent à se former ou entrent en anthèse (Mujica & Jacobsen 1999). La quantité d'eau requise par la plante dans l'Altiplano central de Bolivie est approximativement de 385 mm pour 5 mois et demi de vie physiologique (Tapia *et al.* 1979). Cette quantité correspond plus ou moins aux précipitations de la période d'été, ce qui démontre

que la quinoa est adaptée au régime de pluies dans cette zone. Dans des conditions appropriées de température et d'humidité, les grains germent en 45 heures environ, et les cotylédons apparaissent vers le 7^{me} jour. Dans la germination, la radicule arrive à son extension maximale après quatre jours, puis commence l'émergence de l'hypocotyle, lequel peut atteindre jusqu'à 5 cm de longueur pour arriver à la surface du sol.

2.2.3.1 Résistance à la sécheresse

Bien que la quinoa présente divers mécanismes de résistance au stress hydrique, la sécheresse est un des facteurs les plus courants de baisse des rendements en grain, même si des sécheresses modérées en début de cycle ont plutôt un effet positif d'endurcissement des plantes (Bosque *et al.* 2003). La résistance à la sécheresse met en jeu différents mécanismes morphologiques, anatomiques, phénologiques et biochimiques énumérés dans le Tableau 2-4.

Tableau 2-4 Mécanismes de résistance de la quinoa à la sécheresse (d'après Mujica *et al.* 2001).

Types de mécanismes	Caractéristiques
Morphologiques	Réduction de taille des plantes entières ou des feuilles Réduction de la surface foliaire par perte de feuilles Plasticité du développement et de la croissance Repli des feuilles sur la panicule
Physiologiques	Plus grande résistance stomatique Récupération rapide des capacités photosynthétiques après une période de sécheresse Faible taux de transpiration Concentration sur les organes jeunes de cristaux d'oxalate de calcium réfléchissant la radiation solaire et favorisant la rétention d'humidité atmosphérique Plus grande vitesse d'absorption d'eau Plus grande tolérance au sel
Anatomiques	Plus grand développement racinaire (en densité et profondeur) Réduction du nombre et de la taille des stomates
Phénologiques	Développement racinaire plus rapide dans les premières étapes de croissance Asynchronisme dans la phase de floraison Raccourcissement de la phase de floraison Développement phénologique plus rapide Résistance ontogénique (endurcissement par les stress antérieurs)
Biochimiques	Présence d'oxalate de calcium dans les feuilles, tiges et panicule Thermostabilité des cellules Plus grande production d'acide abscissique (ABA) Translocation des ions K et Ca des cellules stomatiques durant les périodes de sécheresse

2.2.3.2 Résistance au froid

Une teneur élevée en sucres solubles confère également une tolérance supplémentaire au gel par un abaissement significatif de la température de congélation et de la température moyenne létale (Jacobsen *et al.* 2005). Si l'on compare la sensibilité au gel à différentes phases de croissance, la quinoa apparaît plus vulnérable pendant la floraison, qui est également l'étape la plus sensible au stress hydrique. La température moyenne adéquate pour la culture de la quinoa se situe autour de 15-20 °C. On a cependant observé qu'avec des températures moyennes de 10°C la culture se développe parfaitement. À des températures supérieures à 38°C, les fleurs avortent, et les stigmates et les étamines meurent (National Research Council, 1989). Pour les températures basses, les phases de pre-floraison et floraison sont sensibles et ne peuvent résister que jusqu'à -3°C (Canahua & Rea 1979). Bois *et al.* (2006) ont comparé différentes variétés de quinoa de l'Altiplano central et ont constaté leur survie jusqu'à -4°C, un seuil de tolérance proche de celui d'un cultivar sensible des vallées du Pérou étudié par Jacobsen *et al.* (2005). Dans cette dernière étude, les plantes de quinoa au stade 12 feuilles soumises à -4°C pendant 4 heures avaient toujours un taux de survie de 70% dans le cas du cultivar de vallée, et jusqu'à 90% pour la forme provenant de l'Altiplano. Les divergences observées entre ces études réalisées en serre suggèrent une interaction possible de l'humidité de l'air dans la tolérance au gel (Bois *et al.* 2006) et plaident pour la réalisation d'expériences écophysiological *in situ*. Le tableau 2-5 présente quelques uns des mécanismes de résistance au froid rencontrés chez la quinoa.

Tableau 2-5 Mécanismes de résistance de la quinoa au froid (d'après Mujica *et al.* 2001).

Types des mécanismes	Caractéristiques
Morphologiques	Chute de feuilles Réduction de la taille des feuilles Réduction de la taille de la plante
Physiologiques	Mouvements des feuilles et de la tige Osmoregulation de la formation de glace dans l'apoplaste et résistance au sous refroidissement
Anatomiques	Stomates moins nombreux et plus grands
Phénologiques	Phases phénologiques plus tolérantes au froid, prolongation ou raccourcissement des phases phénologiques
Biochimiques	Accumulation de métabolites (sucres solubles, proline et protéines)

Jacobsen *et al.* (2005, 2007) ont démontré qu'un écotype résistant de quinoa (Witulla) avait accumulé 11% de sucres solubles de plus que le génotype sensible (Quillahuaman), ce qui signifierait que les sucres solubles joueraient un rôle d'osmorégulateurs, en évitant la sortie de l'eau de l'intérieur de la cellule lorsque le liquide apoplastique gèle. Cette différence de réaction physiologique face au gel

semble être une réponse adaptative puisqu'elle est en relation avec l'origine géographique des écotypes, Witulla provenant des hauts plateaux froids et Quillahuaman des vallées plus tempérées.

La photopériode est un autre facteur important pour le développement chez beaucoup d'espèces, affectant notamment le développement floral. Les réponses observées par Bertero *et al.* (1999a) sur la relation photopériode et température fournissent une explication partielle du manque de géotypes andins de quinoa pouvant s'adapter aux conditions de jours longs et de températures plus élevées des pays de haute latitude.

2.2.3.3 Tolérance à la salinité

La zone de plus grande production de quinoa dans le monde correspond à la région des salars de l'Altiplano sud de Bolivie, où les sols présentent une grande concentration de sels, principalement de chlorure de sodium. On peut obtenir là, en utilisant une technologie ancestrale, en moyenne 1 t ha⁻¹ de quinoa de bonne qualité, ce qui indique que la quinoa tolère la présence de sel dans le sol.

Six à sept jours après l'ensemencement, les graines de géotypes tolérants au sel germent à plus de 75% à des concentrations salines de 0.6 M de NaCl (57 mS cm⁻¹), ce qui indiquerait que le sel ne provoque pas la mort de l'embryon, mais retarde seulement les mécanismes physiologiques et biochimiques impliqués dans l'étape initiale de la germination (Mujica *et al.* 2001). Des différences significatives de tolérance au sel existent entre cultivars. Pour la plupart d'entre eux, la production est plus élevée dans des conditions modérément salines que dans des conditions non salines, ce qui fait de la quinoa un halophyte facultatif (Bosque *et al.* 2003).

2.2.3.4 Phénologie de la quinoa

Selon Tapia *et al.* (1979), le cycle de croissance de la quinoa peut être différencié en cinq sous-périodes : 1) du semis à l'émergence, 11-57 jours, 2) de l'émergence à l'apparition de la première paire de feuilles, 5-9 jours, 3) de la première paire de feuilles à l'apparition des panicules, 45-56 jours, 4) des panicules à la floraison, 11-31 jours et 5) de la floraison à la maturation, 60-109 jours. Différents auteurs ont proposé des échelles pour décrire le développement phénologique de la quinoa. Espindola (1986) considère les phases phénologiques suivantes : a) émergence, b) deux feuilles véritables, c) quatre feuilles véritables, d) six vraies feuilles, e) ramification, f) début de formation de la panicule, g) formation de la panicule, h) début de la floraison, i) floraison ou anthèse, j) grain laiteux, k) grain pâteux et l) maturité physiologique (Figure 2-5). D'autre part, Espindola (1992) distingue 9 étapes morpho-anatomiques pour la quinoa, qui sont : 0 : étape d'émergence ; 1 : étape cotylédonaire ; 2 : étape des deux feuilles de base ; 3 : étape de 5 feuilles alternes (différenciation paniculaire); 4 : étape de 13 feuilles alternes (pré-émergence paniculaire) ; 5 : étape d'émergence de la panicule ; 6 : étape de floraison ; 7 : étape de grain laiteux ; 8 : étape de grain pâteux; 9 : étape de grain dur (maturité physiologique).

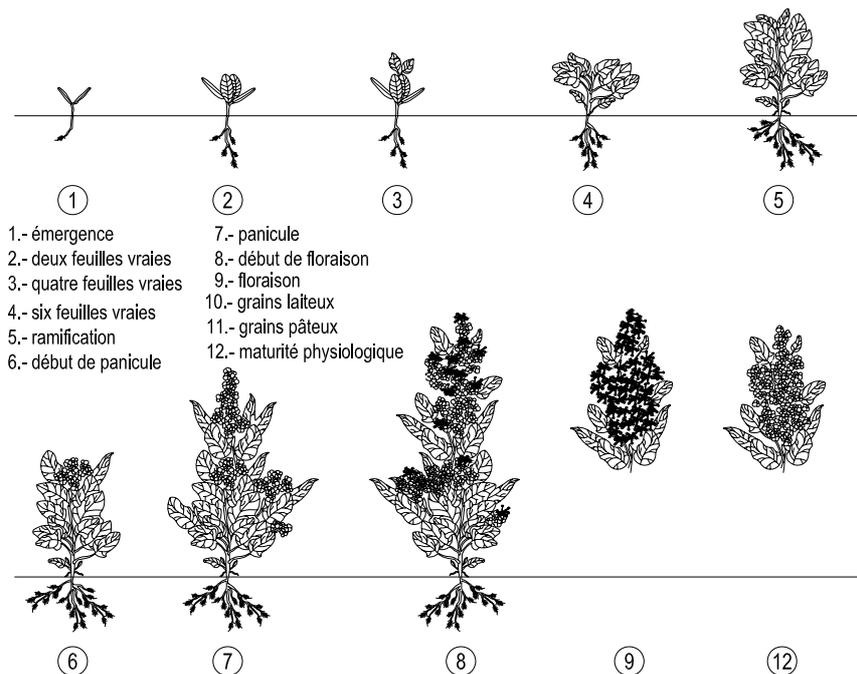


Figure 2-5 Phases phénologiques de la quinoa (d'après FAO 2001).

Évaluant en Angleterre 294 accessions de quinoa, Risi & Galwey (1989) ont trouvé des différences significatives à tous les stades de développement, la période de deux feuilles vraies jusqu'à la formation de la panicule entre 41 et 89 jours; celle de la formation de la panicule à l'anthèse variant de 7 à 53 jours, et la période de l'anthèse à la maturité physiologique entre 65 et 137 jours. Les travaux de Jacobsen (1998) comparant cinq lignées de quinoa pendant trois saisons de culture en Europe du Nord ont montré que les durées totales de cycle dépendent non seulement de la lignée, mais aussi de l'année de culture, du type de quinoa (les quinoas fourragères sont plus précoces que les quinoas à grains) et de la localisation (les cycles sont globalement plus précoces au Danemark qu'au Pérou, Jacobsen & Stølen 1993). Rojas (1998) testant 1512 accessions de quinoa dans les conditions de l'Altiplano bolivien, observe un temps moyen pour la maturité physiologique allant de 119 à 209 jours.

2.2.4 Génétique et diversité de la quinoa

La quinoa a été domestiquée dans les Andes il y a 5000 à 7000 ans (Brack Egg 2003) et soumise à un processus d'amélioration sur plusieurs de ses caractéristiques, dans une vaste gamme d'environnements, allant des hauts plateaux semi-arides aux vallées tropicales, et au littoral du Pacifique. La quinoa cultivée présente ainsi une grande variabilité génétique qui se traduit par une diversité de couleur des tiges, des inflorescences et des graines, de forme et de taille des inflorescences (Photo 2-1), de teneur en protéines, de contenu en saponine, dans la présence ou non de cristaux d'oxalate de calcium sur les feuilles (Photo 2-2).

La quantification des chromosomes de divers cultivars de *Chenopodium quinoa* de Bolivie, Pérou et Chili donne un nombre de 36 chromosomes somatiques, constitués de deux lots diploïdes de $2x = 4n$, avec $n = 9$ chromosomes, faisant de la quinoa une espèce allotétraploïde (Catacora 1977, Gandarillas 1979b, Tapia *et al.* 1979, Wilson 1988 a, b, c, Izquierdo *et al.* 2001). L'origine génétique de la quinoa reste controversée, et plusieurs hypothèses ont pu être formulées. Après avoir envisagé la possibilité d'une origine nord-américaine (Wilson 1976 cité par Mujica *et al.* 2001). Wilson (1990) considère que la quinoa proviendrait de *Ch. Hircinum* Schrad., une espèce sauvage également tétraploïde, présente dans les terres basses de la région andine. Cet ancêtre tétraploïde proviendrait à son tour d'espèces diploïdes communes dans les Andes comme *Ch. Carnosolum* Moq., *Ch. pallidicaule* Aellen, ou *Ch. Petiolare* Kunth.

Une forme sauvage de la quinoa, *Ch. quinoa* ssp. *Melanospermum* Huntz., largement répandue aux abords des cultures serait issue de la dé-domestication (échappée de culture) de la forme cultivée. Elle est également tétraploïde et n'en diffère que par la couleur des graines, noires au lieu de blanches (Wilson 1988c, 1990).

Les résultats de différents croisements montrent que la quinoa présente une hérédité monogénique avec allélisme multiple pour la couleur rouge des feuilles, cette dernière dominant sur le pourpre et le vert, et le pourpre dominant le vert. La présence de couleur au niveau des aisselles des feuilles est un caractère dominant (Tapia *et al.* 1979, Izquierdo *et al.* 2001). Concernant la forme de l'inflorescence, on observe une ségrégation de 3 glomériformes pour 1 amarantiforme. La stérilité mâle est nucléocytoplasmique, avec une descendance de 3 fertiles et 1 stérile dans le croisement avec une plante fertile mâle (Izquierdo *et al.* 2001).

L'hérédité de la couleur des graines suit un processus différent chez les graines noires, marrons, jaunes et blanches. Les croisements effectués montrent, par les proportions de couleurs dans la génération F₂, une hérédité complémentaire pour ce caractère de coloration des grains. La couleur noire (ancestrale et sauvage) est dominante sur les autres, avec deux séries alléломorphiques complémentaires et indépendantes : celle des grains marrons (« *cafés* » en espagnol) de type « C » avec les allèles C, c^c et c, et celle des grains jaunes (« *amarillos* » en espagnol) « A » avec les allèles A, a^c a^{cc}, a et probablement a^r, dont la combinaison des deux allèles dominants à chacun des loci A-C- donne des grains noirs, tandis que les autres combinaisons se traduisent par des couleurs différentes (marron, jaune, blanc, ...). Les graines blanches sont l'expression de l'homozygotie récessive pour les deux séries alléliques, ce qui rend plus facile leur sélection dans l'amélioration (Tapia *et al.* 1979). Par ailleurs, on a observé, chez la quinoa, une ségrégation spontanée de grains noirs et blanches à partir de grains blancs en conditions naturelles. Ceci peut être dû à des croisements avec des variétés sauvages, mais il existe également des indices suggérant l'intervention d'éléments génétiques sauteurs (ou transposon) (Izquierdo *et al.* 2001).

Les ressources génétiques des espèces de *Chenopodium* apparentées à la quinoa offrent une série de caractéristiques potentiellement utiles pour l'amélioration de la culture. Ainsi, *Ch. carnosolum* est une source génétique pour la précocité et la rusticité, *Ch. petiolare*, *Ch. hircinum* et *Ch. nuttaliare* Safford hébergent des gènes résistant au mildiou (*Peronospora farinosa* (Fr.) Fr.) (Bonifacio 2001).

Gandarillas (1984) considère que la tolérance de la quinoa à l'excès de sels vient de *Ch. carnosolum* qui pousse dans des zones à forte concentration saline, la résistance au froid viendrait de *Ch. pallidicaule* qui croît aux très hautes altitudes, et la morphologie de la quinoa viendrait de *Ch. petiolare*. Plusieurs banques de gènes conservent de nombreuses accessions (Tableau 2-6).

Tableau 2-6 Banques de gènes de la quinoa en Amérique du Sud (d'après Rojas 1998, Figueroa et al. 2002).

Pays	Lieu	Nombre d'accessions
Argentine	Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, en custodia del INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria)	450
Bolivie	Fundación para la Promoción de Investigación de Productos Andinos – PROINPA	2511
	Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés – U.M.S.A.	1400
	Facultad de Agronomía, Universidad Técnica de Oruro – U.T.O.	1500
Brésil	Centro de Pesquisa Agropecuaria – EMBRAPA	800
Chili	Centro regional de investigación Intihuasi, Banco Base de INIA	73
Colombie	Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia	300
Équateur	Estación Experimental Santa Catalina	400
Pérou	Estación Experimental Baños del INCA, Cajamarca	236
	Universidad Nacional Agraria La Molina	1276
	Estación Experimental Andenes, Cuzco	50
	Estación Experimental Illpa, Puno	104
	Universidad Nacional del Altiplano, Puno	1144



Photo 2-1 Quinoa en champ paysan (26/04/2002, Villa Cajjata, province d'Achacachi) montrant une grande variabilité de couleurs et de formes des panicules.

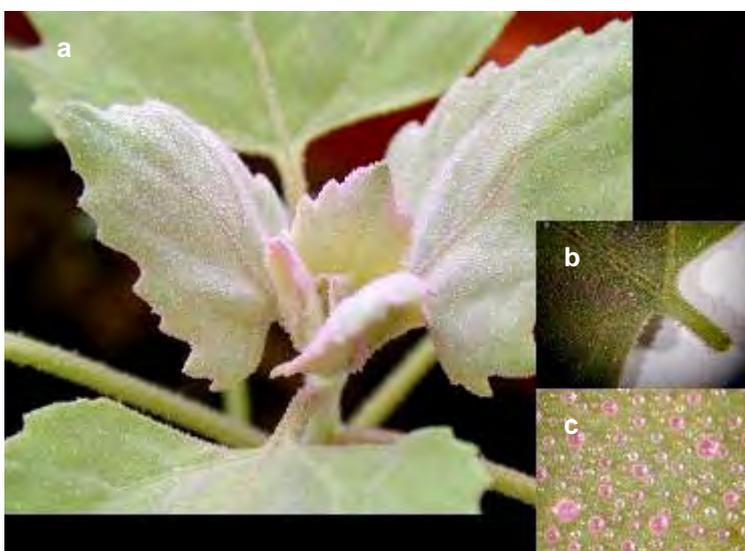


Photo 2-2 Vésicules d'oxalate de calcium sur : a) la partie terminale d'une jeune plante, b) le limbe et le pétiole d'une jeune feuille et c) un limbe foliaire (gros plan).



Photo 2-3 Différentes techniques d'égrenage des panicules de quinoa.

2.2.5 Techniques culturales

Le travail cultural pour la production de la quinoa est généralement limité à la préparation du terrain, au semis, au contrôle des maladies, des parasites et, plus rarement, des mauvaises herbes, et à la récolte.

Dans l'Altiplano nord ou central, la quinoa est une culture de rotation qui ne nécessite pas de préparation spécifique du terrain pour le semis car, suite à la récolte de la pomme de terre, le sol est suffisamment meuble. Dans l'Altiplano sud, la rotation est rare et les cycles de culture de la quinoa alternent avec des périodes de jachère plus ou moins longues : de plus de dix ans autrefois, elles sont souvent passées à deux-trois ans seulement depuis que la production s'est intensifiée. Dans le sud semi-aride, le labour préparatoire intervient au milieu de la saison des pluies précédant le semis avec l'objectif d'emmagasiner dans le sol les précipitations reçues jusqu'à la saison de culture suivante. La préparation de la première mise en culture se fait au moyen de charrues à versoir et à disques ou, dans les endroits accidentés, à l'aide de charrues jointes ou même de simples houes. En terrain plat, viennent ensuite l'ameublissement et l'émottage du sol avec des herses croisées ou à disques. Le nivellement peut être réalisé au moyen de barres de fer ou de grosses planches. Étant donné la petite taille des graines et les fortes hétérogénéités d'humidité et de compaction du lit de semence, cette opération de nivellement est importante pour la réussite de la levée, et reste une difficulté majeure pour l'agriculture mécanisée dans les Andes.

Les semis ont habituellement lieu durant les mois d'août et de septembre, mais peuvent être retardés jusqu'à début décembre avec certaines variétés de cycle très court (90 jours). Cette activité diffère selon que le système de culture utilise des outils traditionnels ou des machines agricoles. La manière de semer varie aussi selon les régions de production, se faisant par poquets (*hoyos*) dans les régions méridionales arides, et sur des sillons (*surcos*) ou à la volée dans les régions mieux arrosées de l'Altiplano central et nord et les vallées inter-andines. La densité de semis est de 10 à 15 kg ha⁻¹ de grains. Les agriculteurs cherchent à éviter les risques de destruction de leurs plantes en diversifiant les écotypes qu'ils sèment dans différentes parcelles (et même au sein de la même parcelle !). Néanmoins, dans l'Altiplano sud, la production commerciale tend à uniformiser les variétés semées, et à concentrer et étendre les zones de culture.

La fertilisation organique ou minérale des parcelles de quinoa est peu pratiquée. En rotation avec la pomme de terre, la quinoa se satisfait de l'engrais organique résiduel de la culture précédente. Cependant, des études ont montré que les rendements bénéficiaient d'une fertilisation azotée adéquate (Alegria *et al.* 1999, Auza 2003). Dans la production d'exportation de l'Altiplano sud, les normes de certification biologique proscrivent la fertilisation minérale et recommandent l'incorporation de fumier lors du semis (Félix 2008). Mais cette pratique est rendue problématique par le déclin de l'élevage lié à l'expansion de la frontière agricole. Concernant les autres minéraux et l'eau, la quinoa a des besoins faibles en calcium et potassium, et peut très bien s'adapter à des sols sablonneux ou argileux. Elle est en revanche sensible à l'excès d'humidité et préférera donc un sol limoneux doté d'un bon drainage sur des pentes modérées. Elle tolère une large gamme de pH du sol, depuis les

sols alcalins de la région des salars boliviens (pH 9) jusqu'aux sols acides (pH 4,5) de la région de Cajamarca (Pérou). Il existe des génotypes adéquats pour chacune des conditions extrêmes de pH (Mujica 1979).

La quinoa est affectée par des facteurs biotiques comme les maladies et les insectes qui réduisent considérablement le rendement et la qualité du produit. Les insectes observés sur la quinoa cultivée dans l'Altiplano sont : les « ticonas » qui correspondent au groupe complexe des noctuidés (*Copitarsia turbata* Herrich-Schäffer, *Feltia experta* Walker et *Spodoptera* sp.) et la mite de la quinoa sous forme de chenilles et de larves appelées « kcona konas » (*Eurysacca melanocampta* Meyric ou *Scrobipalpula* sp.) (Ortiz *et al.* 2001). Le contrôle des insectes par voie chimique ou naturelle (pièges, bio-insecticides) est une pratique assez courante dans l'Altiplano sud, mais rare dans l'Altiplano central et nord. La prolifération de parasites semble avoir été facilitée par la mécanisation et l'extension de la monoculture de la quinoa. Les recommandations de contrôle intégré des parasites préconisent l'utilisation d'extraits naturels de plantes et de bio-insecticides. Des études sont aussi menées avec le concours d'agriculteurs locaux pour déterminer les méthodes les plus adéquates de contrôle biologique, comme par exemple les pièges nocturnes lumineux ou les phéromones. Sur le plan proprement pathologique, la maladie la plus importante de la quinoa est le mildiou provoqué par le champignon *Peronospora farinosa*. Il cause des dommages aux feuilles, provoquant par des chutes de rendement allant de 10 à 30%. Seuls des traitements chimiques préventifs sont connus, mais restent peu appliqués du fait de leur coût élevé pour les producteurs andins. Ces traitements ne sont pas utilisés dans les zones de production biologique du sud de l'Altiplano, d'ailleurs très rarement affectées du fait de leur climat nettement plus aride.

La récolte commence généralement vers la fin du mois d'avril, et le travail peut s'étaler sur deux mois car la maturité des plantes au sein du terroir n'est pas uniforme. Les plantes à maturité sont coupées ou arrachées, mises en gerbes regroupées ou non par variétés (selon la quantité, le temps et la main d'œuvre disponibles), et laissées à sécher sur les parcelles pendant 30 à 45 jours. Le battage s'effectue de façon rudimentaire, soit mécaniquement (passage sous les roues de tracteurs ou de camions) soit de manière traditionnelle (fléaux ou animaux), dans les deux cas sur une bâche de toile ou de plastique pour éviter que les grains ne se dispersent sur le sol (Photo 2-3). Les rendements sont très variables et globalement faibles : en culture traditionnelle réussie, ils vont de 400 à 1200 kg ha⁻¹.

2.2.6 Valeur alimentaire

Les feuilles de quinoa sont mangées comme des épinards et les graines très abondantes et petites, comme chez le riz, sont consommées de différentes manières. La quinoa a un potentiel nutritif important. Elle se caractérise par une teneur élevée en protéines : 14 à 21%, contre 7 à 12% chez la plupart des autres céréales (blé, riz, maïs, orge, etc.) (Bhargava *et al.* 2006, Ayala *et al.* 2001). Cependant, son principal intérêt nutritif réside dans sa composition équilibrée et complète en acides aminés essentiels (la lysine fait généralement défaut dans les autres céréales), comparable à celle du lait et supérieure à celle du blé et d'autres céréales (Chauhan *et al.* 1992, Koziol 1992, Ng *et al.* 2007). En outre, elle offre un contenu en minéraux très supérieur à celui des céréales classiques, en particulier en phosphore, magnésium, potassium et fer. Enfin, des études récentes indiquent que la

quinoa est une excellente source de vitamines, d'antioxydants et d'acides gras (Dini *et al.* 2004, Ng *et al.* 2007). Il n'est donc pas surprenant que la FAO ait choisi la quinoa comme une des cultures destinées à garantir la sécurité alimentaire, particulièrement pour les habitants des Andes qui l'ont historiquement cultivée, et qu'aux USA, en Europe occidentale et au Japon, la quinoa soit commercialisée comme un aliment à haute valeur nutritive (Galwey 1993).

Les saponines, substances antinutritives que sont présentes dans les grains et les jeunes feuilles, sont éliminées par lavage ou frottement (Chauhan *et al.* 1992). Après avoir fait l'objet d'une sélection négative par les améliorateurs (Jacobsen 1997, Mastebroek *et al.* 2000, Ward 2000), les saponines sont devenues un sous-produit recherché par l'industrie cosmétique et des perspectives existent aussi pour les utiliser comme pesticides naturels (San Martin *et al.* 2007).

2.3. Agrobiodiversité et fonctionnement des agroécosystèmes

L'agrobiodiversité¹ intéresse de nombreux chercheurs en biologie, en agronomie, en sciences sociales, économiques et juridiques ainsi que les militants de la mouvance environnementaliste. Le maintien de la diversité taxonomique – en particulier spécifique et variétale pour les plantes cultivées – et génétique dans un écosystème cultivé se justifie sur le plan biologique par le fait qu'elle favorise la capacité des agroécosystèmes à réagir au changement. La résilience, c'est-à-dire la façon dont un système répond aux changements, occupe une place privilégiée dans la justification de la conservation de l'agrobiodiversité, elle traduit la capacité du système à s'organiser par rapport à des stress externes avec un minimum d'effet sur sa productivité (Trenbath 1974). Les agroécosystèmes² sont conçus et contrôlés dans le but de produire certains biens nécessaires à l'être humain, et ils possèdent pour cela une gamme d'attributs fonctionnels qui les distinguent des écosystèmes dits naturels (Wood *et al.* 2000). Le premier d'entre eux est défini simplement par la productivité biologique, c'est-à-dire le rendement de la production de la biomasse. Mais les agroécosystèmes présentent aussi d'autres valeurs quantifiables en termes monétaires ou de qualité (e.g. valeur nutritive des aliments), ainsi que des avantages sociaux et culturels moins facilement définis, liés à un type très particulier de production (e.g. systèmes agroalimentaires localisés) ou relevant, au contraire, d'une large gamme de fonctions socio-économiques étroitement imbriquées à des fonctions biologiques et partagées avec les écosystèmes naturels (e.g. régulation hydrologique, entretien des paysages ruraux).

L'expansion et l'intensification des cultures font partie des changements globaux prédominants de ce siècle. L'intensification de l'agriculture par l'utilisation de variétés à hauts rendements, de la fertilisation

¹ L'agrobiodiversité concerne les espèces végétales et animales domestiquées ainsi que leurs parents sauvages (les espèces apparentées peuvent pousser spontanément dans des écosystèmes sauvages ou sont volontairement préservées dans les agroécosystèmes cultivés (Henry & Gouyon (1999), mais aussi tous les organismes ayant un impact positif et/ou négatif sur l'agriculture ou l'élevage (mauvaises herbes, agents pathogènes, pollinisateurs, etc.) (Wood & Lenné 1999). Les organismes vivants impliqués dans l'agrobiodiversité peuvent être classés en trois ensembles selon leur rôle fonctionnel : le biotique productif (produits agricoles destinés à la consommation), le biotique ressource (organismes et microorganismes agissant positivement sur le système) et le biotique destructif (agents pathogènes et prédateurs de cultures) (Barbault 1995).

² L'agroécosystème est un système écologique que l'Homme construit dans l'intention de produire de la nourriture, des fibres ou d'autres produits agricoles (Conway 1987). Les composants de ce système sont davantage déterminés par leur fonction que par leur présence (Wood & Lenné 1999).

minérale, de l'irrigation et des pesticides a contribué à une très importante augmentation de la production alimentaire au cours des 50 dernières années. Cependant, l'intensification de l'utilisation du sol change également les interactions biotiques et la disponibilité des ressources dans les écosystèmes, avec de graves conséquences environnementales locales, régionales et mondiales. L'utilisation de stratégies de gestion écologiques peut augmenter la durabilité de la production agricole tout en réduisant ses impacts négatifs sur l'environnement (Matson *et al.* 1997). Selon Swift *et al.* (1996) et Lacroix & Abbadie (1998), les rapports entre biodiversité et fonction dans les agroécosystèmes sont longtemps restés peu étudiés. La recherche agronomique était principalement orientée vers l'augmentation des rendements de filières animales ou végétales spécifiques, le plus souvent sans prendre en compte des besoins réels des agriculteurs ni du contexte écologique de la filière considérée (Altieri 2002). Des analyses récentes ont cependant été réalisées sur l'effet du nombre d'espèces (ou d'autres traits de la biodiversité) sur une ou plusieurs fonctions spécifiques des agroécosystèmes : Duelli *et al.* (1999), Marshall et Moonen (2002) ou Crutsinger *et al.* (2006) ont ainsi examiné en détail les relations entre la biodiversité structurale des zones agricoles et la biodiversité fonctionnelle des populations d'insectes, d'oiseaux ou de plantes adventices. Ces études signalent la nécessité de prendre en compte des échelles spatiales suffisamment larges pour considérer la mosaïque des génotypes, des espèces et des paysages présents dans l'environnement des parcelles cultivées, une préoccupation longtemps ignorée par l'agronomie conventionnelle. Si la question de l'évaluation de l'agrobiodiversité est complexe (quelle échelle d'espace ? quels compartiments ?), la question du fonctionnement ne l'est pas moins dans la mesure où les attributs pouvant servir à l'évaluation fonctionnelle concernent tous les aspects du processus complexe de la production végétale (Naeem *et al.* 1996, Tilman *et al.* 1997). Si les premiers travaux se sont d'abord focalisés sur le débat de la relation biodiversité/stabilité, de nombreuses recherches sont actuellement menées sur le rôle de la biodiversité dans la productivité (Loreau 2000). Les résultats expérimentaux aboutissant à une réponse positive (plus de diversité augmente la stabilité et la productivité) ont fait l'objet de critiques concernant l'interprétation des résultats (Aarssen 1997) mais aussi concernant les dimensions de la biodiversité (Wood et Lenné 1999). La diversité biologique et physique des écosystèmes est une condition importante pour leur adaptabilité aux contraintes de l'environnement (Tilman et Downing 1994). Elle assure une productivité primaire élevée en même temps qu'une certaine stabilité face à l'imprévisibilité du climat (Chapin *et al.* 1998, Loreau 2000). Dans certains agroécosystèmes, aussi bien traditionnels que modernes, cette diversité est volontairement entretenue pour limiter l'impact des aléas climatiques et assurer une gestion durable des ressources naturelles (Zimmerer 1991, Tilman 1999). Tandis que d'autres agroécosystèmes sont menacés d'uniformisation par l'introduction de nouvelles variétés et techniques supplantant celles adaptées aux conditions locales (Vitousek *et al.* 1997, Altieri 2002, Benton *et al.* 2003). Ainsi, l'agriculture représente une énorme expérience non planifiée sur la façon dont la biodiversité répond au changement environnemental. En effet, les paysages agricoles sont d'excellents modèles pour étudier les rapports entre la biodiversité et l'habitat, et l'importance de la biodiversité pour le fonctionnement des écosystèmes (Swift *et al.* 1996, 2004). L'étude de Chloupek *et al.* (2004) sur la diversité des cultures, la stabilité de leurs rendements et leur adaptabilité aux changements de climat, depuis 75 ans en

République Tchèque, démontre que les cultures offrant la plus forte augmentation de rendement au niveau national sont aussi celles présentant la meilleure adaptabilité aux variations inter-annuelles du climat, aux cultivars semés et aux techniques de culture.

2.4 Agrobiodiversité et conservation des ressources agricoles

La biodiversité agricole est le fruit de l'ingéniosité humaine : elle représente l'accumulation des connaissances de générations d'agriculteurs depuis environ 10 000 ans. Ces connaissances sont liées à la diversité génétique des espèces et à la variété des écosystèmes, elles-mêmes façonnées par d'innombrables adaptations et par les interactions continues entre les espèces, et finalement agencées par l'être humain pour son propre bénéfice. Les agriculteurs sont ainsi les principaux garants d'une sécurité alimentaire indispensable à l'autonomie des sociétés. La reproduction du système social dans lequel ils évoluent dépend de leur capacité à satisfaire leurs besoins quotidiens et de leur aptitude à choisir les formes de développement³ qui leur conviennent. Cependant, la défense de la diversité culturelle au nom de la conservation de la diversité biologique est problématique. En effet, les raisons qui conduisent des agriculteurs à gérer de certaines façons la diversité biologique sur leurs territoires ne concordent pas nécessairement avec les objectifs et les valeurs des programmes nationaux ou internationaux de conservation (Altieri 2002).

Bardsley (2003) affirme que la conservation *in situ* de l'agrobiodiversité peut offrir des solutions aux problèmes sociaux et écologiques posés par l'uniformisation globale, notamment dans les territoires marginaux pour la production agricole, comme les régions de montagne. Un modèle écologique alternatif pourrait se concentrer principalement sur des questions de durabilité socio-écologique en s'assurant que le développement maintient l'agrobiodiversité locale. La préservation des ressources agro-génétiques fait ainsi l'objet d'une prise de conscience grandissante au niveau des politiques nationales et mondiales. Il y a une raison impérieuse à cette prise de conscience : dans un futur proche, l'approvisionnement en nourriture du monde dépendra d'une amélioration significative des cultures et donc d'un renforcement de l'exploitation de la diversité agro-génétique (Gollin et Smale 1999). Dans un même temps, bon nombre d'agriculteurs dans le monde continueront à dépendre directement du produit de la diversité génétique qu'ils sèment à des fins alimentaires, fourragères, économiques ou culturelles (Zimmerer et Douches 1991; Bellon 1996; Mellas 2000). On considère généralement que l'exploitation de variétés adaptées localement peut également améliorer les écosystèmes eux-mêmes puisqu'elles nécessitent moins de pesticides et de fertilisants, et qu'elles ont un effet bénéfique sur la structure des sols (Vandermeer 1995; Zhu *et al.* 2000). La disponibilité de ces variétés adaptées localement pour les micro-niches particulières peut aider les agriculteurs, en particulier les plus pauvres, à maintenir ou à accroître le rendement de leurs champs (Jarvis *et al.* 2000). Selon leur système de gestion, les agriculteurs et les communautés agricoles contrôlent la biodiversité, dans certains cas à des niveaux très élevés (p.ex. jardins potagers, vergers) et dans d'autres à des niveaux très bas (p.ex. production industrialisée de céréales). Il en résulte que la

³ Le développement est à la fois une fin en soi et un moyen. En tant qu'objectif, il peut être mesuré à l'aide d'indices fondés sur la santé, l'éducation et le revenu (PNUD 1999) ou sur la santé, l'éducation, l'environnement, l'emploi, la croissance économique, les finances et le commerce (Banque-Mondiale 1999).

biodiversité est fréquemment très haute dans les agroécosystèmes traditionnels, et reste significative dans les systèmes intermédiaires sensiblement intensifiés, mais que la modernisation poussée de l'agriculture a comme conséquence une perte substantielle de biodiversité. Les concepts d'agroécosystème et de paysage agricole deviennent ainsi des éléments centraux pour la conservation de l'agrobiodiversité (Swift *et al.* 1996). Si les efforts de conservation concentrés sur certaines espèces en danger ont rapporté quelques succès, ils restent coûteux et la protection ou la restauration d'écosystèmes entiers représente souvent une manière plus efficace de maintenir la diversité génétique de populations ou d'espèces (Vitousek *et al.* 1997). Mais ces principes généraux trouvent encore peu d'applications et, concrètement, la conservation de l'agrobiodiversité prend essentiellement deux formes : la conservation *in situ* et la conservation *ex situ*.

La conservation *in situ* est la conservation des ressources génétiques dans leur habitat naturel, effectuée par les agriculteurs eux-mêmes dans leurs champs. Pour la Convention sur la Diversité Biologique (UNEP-Genève), la conservation *in situ* des espèces sauvages et domestiquées a pour définition : "la conservation des écosystèmes et des habitats naturels, l'entretien et le rétablissement des populations des espèces domestiquées ou cultivées, dans l'environnement où elles ont développé leur caractéristiques (Engels et Wood 1999). En accord avec l'IPGRI (2000), les programmes de conservation *in situ* incluent les objectifs suivants : a) conserver les processus d'évolution et d'adaptation des cultures dans leur environnement, b) conserver la diversité à différents niveaux : écosystèmes, espèces, intra spécifiques, c) intégrer les agriculteurs dans un système national de ressources phytogénétiques, d) conserver les services des écosystèmes qui sont critiques pour le maintien de la vie de la planète, e) améliorer le bien-être des agriculteurs pauvres à travers le développement économique et social, et f) maintenir ou augmenter le contrôle des agriculteurs sur leurs ressources génétiques.

La conservation *ex situ* peut être définie comme la conservation des gènes ou des génotypes des plantes hors de leur environnement naturel, pour une utilisation actuelle ou future (Jaramillo et Baena, 2000). L'objectif est de maintenir l'état et l'intégrité génétique des ressources, depuis leur collecte et pour la durée la plus longue possible. Afin de répondre à cet objectif, plusieurs techniques sont actuellement disponibles : conservation de plantes entières, au champ ou en serres, conservation à basse température de pollens ou de graines déshydratées, conservation *in vitro* d'organes ou de tissus, et stockage de l'ADN.

Pour la complémentarité des méthodes de conservation, il est important d'adopter une position holistique de conservation dans un contexte large et, autant que possible, dans un processus de développement. Ceci inclura le développement local, le développement national, et même les contributions de l'agrobiodiversité au développement mondial. Considérant l'intérêt agronomique, social, économique et éthique du maintien de l'agrobiodiversité, les politiques ont multiplié les programmes de conservation, selon un modèle *ex situ* dans un premier temps, puis en y associant des méthodes complémentaires *in situ*, valorisant le rôle de l'agriculteur en tant que gestionnaire de la biodiversité agricole. Les conservation *in situ* et *ex situ* n'ont pas les mêmes objectifs, ne se justifient pas par les mêmes arguments (éthiques, culturels, biologiques et économiques), ne mettent pas en

œuvre les mêmes processus et ne conservent pas les mêmes quantité et qualité de diversité. Pour une collection figée de gènes utiles et facilement accessibles aux améliorateurs, la conservation *ex situ* sera choisie, alors que pour le maintien d'un niveau de diversité dynamique adaptée aux changements socio-environnementaux, la conservation *in situ* devra être mise en œuvre.

2.5 Quinoa, agrobiodiversité et économie

La quinoa est, avec la pomme de terre, la culture traditionnelle des hauts plateaux andins, et toutes deux présentent une grande diversité tant à l'échelle régionale que parcellaire. Malgré son intérêt alimentaire et commercial et son adaptation remarquable à des conditions de sol et de climat extrêmes, la quinoa reste peu étudiée, aussi bien sous ses aspects de fonctionnement agrophysiologique et agronomique, que de diversité biogéographique. Les pommes de terre andines ont reçu beaucoup plus d'intérêt de la part des chercheurs, probablement parce qu'elles représentent une source potentielle d'amélioration génétique pour une culture devenue commune dans les pays du nord. Concernant le thème de l'agrobiodiversité andine, les travaux de Zimmerer (1991, 1996, 1998) sur la biogéographie des pommes de terre du Pérou sont certainement les plus importants à ce jour, en particulier parce qu'ils remettent en cause le principe d'adaptation étroite qui prévalait jusqu'ici pour expliquer la diversité considérable des variétés locales et des écotypes rencontrés au Pérou et dans les pays voisins. Il suggère que les variétés locales ne sont pas des formes spécialisées, étroitement adaptées à leur région d'origine, mais au contraire des systèmes génétiquement ouverts ayant de larges aptitudes écologiques. Selon Morlon (1992) et Vacher *et al.* (1998), la dispersion des risques et la complémentarité des ressources sont deux aspects de la stratégie de subsistance mise en œuvre dans les systèmes agricoles andins, stratégie qui se traduit par de fréquents mélanges de variétés ou associations de cultures au sein d'une même parcelle ou d'un même terroir.

En Bolivie, si les exportations de quinoa s'élèvent à 5 millions de dollars annuels (FDTA 2002), 78% de la production nationale reste destinée à l'autoconsommation. L'activité de production de quinoa concerne environ 50 000 petits producteurs vivant en majorité (80%) dans l'Altiplano sud, c'est-à-dire dans la région la plus déshéritée du pays, à des altitudes supérieures à 3 500 m, sur des sols marginaux et sous des conditions climatiques sévères. Il s'agit en général de producteurs disposant de moyens de production très limités et qui, pour cette raison, font un usage stratégique des faibles ressources productives qu'ils possèdent : force de travail, terre et semences. Les semences de quinoa et la connaissance qu'en ont les producteurs sont fondamentales pour la survie des agriculteurs et de leurs familles. Ces semences, et toutes les variétés qu'elles représentent, constituent donc une ressource vitale pour une partie importante de la société rurale bolivienne.

Du point de vue des phytogénéticiens, la diversité des quinoas boliviennes forme un vaste "*pool de gènes*", dans lequel ils peuvent rechercher les caractéristiques adéquates pour développer de nouvelles et meilleures semences, ainsi que pour garantir le processus de co-évolution de l'espèce dans son contexte socio-environnemental propre.

La diversité de la quinoa est menacée par des processus aussi divers que l'accroissement du commerce international, l'émigration rurale, les transformations culturelles et le développement de

technologies modernes de production. C'est pourquoi il est fondamental pour la Bolivie, pays qui partage avec le Pérou le centre d'origine de cette espèce et qui, probablement, en abrite encore la plus grande biodiversité connue, de connaître l'état de cette diversité dans le contexte des agroécosystèmes et des communautés de producteurs qui l'ont développée et entretenue jusqu'à aujourd'hui.

CHAPITRE 3
CARACTÉRISATION GÉNÉTIQUE DE LA QUINOA À L'AIDE DE
MARQUEURS MOLÉCULAIRES RAPD

3.1 Introduction

Dans les pays andins (principalement Equateur, Pérou, Bolivie), les espèces cultivées traditionnelles (quinoa : *Chenopodium quinoa* Willd., kañahua : *Chenopodium pallidicaule* Aellen, amarante : *Amaranthus caudatus* L., pomme de terre : *Solanum ssp.*, oca : *Oxalis tuberosa* Mol.) jouent un rôle important sur les systèmes de production et l'alimentation des populations rurales. Or les hauts plateaux (Altiplano) et les vallées inter-andines, centres primaires de diversité génétique, connaissent depuis une vingtaine d'années une perte sensible de biodiversité agricole, spécialement des espèces marginales et négligées par les institutions de recherche agronomique. Parmi celles-ci la quinoa représente une culture de grande importance culturelle et économique, notamment en Bolivie où diverses institutions (e.g. Fondation PROINPA, Facultés d'Agronomie des Universités Publiques de La Paz et Oruro) entretiennent la plus grande collection mondiale de germoplasme de cette espèce, avec plus de 2700 accessions. Les caractéristiques morphophénologiques et les usages alimentaires de la quinoa montrent une très grande diversité entre variétés ou écotypes locaux (National Research Council 1989). Pour la quinoa cultivée, la variation la plus forte se rencontre aux abords du lac Titicaca et, au delà, entre Cuzco (Pérou) et le lac Poopó (Bolivie). C'est donc dans cette région que les scientifiques situent l'origine de la domestication de l'espèce (Gandarillas 1979, Pearsall 1992). Au cours des 20 dernières années, les haut plateaux et les vallées des Andes ont subi une perte considérable de biodiversité agricole, particulièrement concernant les espèces marginales ou négligées par les institutions de recherche agronomique (Brush 1998, Morlon 1996, Zimmerer 1996). Pour la quinoa, le succès de l'écotype "*Real*" sur le marché international depuis une quinzaine d'années, et la concurrence d'autres produits alimentaires (pâtes, riz, etc.) sur le marché intérieur, ont entraîné une forte érosion de la diversité de cette culture, notamment dans la zone altiplanique (Hellin & Higman 2003, Laguna 2002). En plus des pertes possibles d'usages alimentaires, pharmaceutiques ou industriels, la perte de variabilité génétique peut aussi affecter la capacité d'adaptation de l'espèce aux conditions de milieu difficiles de l'agriculture andine, et en particulier à l'imprévisibilité du climat (François *et al.* 1999, Garcia *et al.* 2002). L'étude de la variation génétique de la quinoa est donc essentielle pour comprendre l'organisation de la diversité biologique de l'espèce en relation avec sa distribution géographique. L'identification de groupes génétiquement distincts est en effet à la base de l'élaboration de stratégies de conservation et de gestion des ressources génétiques dans les programmes d'amélioration variétale.

L'espèce *Chenopodium quinoa* Willd. comprend des cultivars domestiqués (subsp. *quinoa*) et des formes spontanées, adventices des cultures (subsp. *milleanum* or *mekanospermum*) (Wilson 1981 1988a, b, c). Les populations domestiquées et spontanées de quinoa sont sympatriques, et présentent un système reproductif préférentiellement autogame ainsi qu'une large gamme de variation de forme et de couleur des feuilles et des graines. Toutefois, des traits morphologiques permettent de différencier les deux formes, les plantes domestiquées montrant plusieurs caractéristiques adaptatives comme une hauteur de plante et une taille de graines supérieures, des inflorescences plus compactes, des fruits non déhiscentes et des graines sans dormance. Les plantes domestiquées produisent des graines généralement claires, alors que les plantes spontanées sont toujours à grains

noirs. Mais l'absence de différenciation moléculaire entre populations domestiquées et spontanées les fait considérer comme faisant partie d'un même complexe monophylétique culture/adventice (Wilson 1988c, 1990).

Le patron de diversité génétique intra- et inter-populations cultivées de quinoa a déjà été étudié mais seulement à partir d'un nombre réduit de loci allozymes (*e.g.* Wilson 1981, 1988a-c), ce qui limite la généralisation des conclusions que l'on peut en tirer. Au contraire des marqueurs allozymes, les marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) peuvent fournir un grand nombre de marqueurs génétiques et se sont révélées utiles pour l'analyse de la structure génétique d'espèces cultivées. Cette technique offre l'avantage d'être rapide et relativement simple à mettre en oeuvre, de nécessiter peu de matériel végétal, et d'avoir une bonne résolution sans connaissance préalable des séquences d'ADN (Nybon 2004). Les marqueurs RAPD ont été utilisés par Ruas *et al.* (1999) pour examiner la variabilité génétique de collections de germoplasme de *Chenopodium*. Ils ont trouvé que les populations spontanées et cultivées de *C. quinoa* partageaient un faible niveau de variation moléculaire, sans différenciation entre populations domestiquées et adventices sympatriques, et avec de faibles niveaux de variation intra spécifique au sein des accessions. Mais l'extrapolation de ces résultats pour la conservation de la diversité génétique *in situ* doit rester prudente. En effet, il a été démontré que les patrons de diversité génétique des collections de germoplasme pouvaient différer de la structure génétique réelle des variétés locales cultivées (Doebley *et al.* 1985, Morden *et al.* 1989, Djé *et al.* 1999). C'est pourquoi, des recherches sur la structure de la diversité génétique de la quinoa *in situ* sont encore nécessaires avant d'orienter les programmes de conservation et d'observations des changements de diversité en cours.

Ce chapitre examine la structure génétique de populations de quinoa provenant de trois régions distinctes de l'altiplano et une vallée inter andine de Bolivie, collectées directement en champs paysans. Notre objectif principal a été d'évaluer à l'aide de marqueurs RAPD le degré de diversité génétique de populations locales et sa répartition entre trois niveaux hiérarchiques : individus, populations et écorégions. Par ailleurs, nous avons comparé la diversité génétique de formes spontanées et cultivées de quinoa, et discuté du niveau de diversité génétique encore présent au sein des populations de quinoa actuellement cultivées.

3.2 Synthèse bibliographique

3.2.1 Marqueurs moléculaires

La biochimie a été utilisée par les taxonomistes à partir des années 1960, principalement pour l'évaluation de composants chimiques secondaires tels que les flavonoïdes ou les terpénoïdes. Depuis une vingtaine d'années, les biologistes de différentes disciplines (systématique, génétique, biologie des populations, écologie) se sont tournés vers l'utilisation des protéines et de l'ADN. Mais c'est surtout depuis une dizaine d'années que l'emploi de l'ADN comme marqueur s'est considérablement développé (Maquet 1995).

En biologie végétale, le terme marqueur s'applique à plusieurs concepts, parfois très différents. Un marqueur morphologique par exemple est un caractère physique (couleur, forme, longueur...)

généralement dominant, souvent influencé par le milieu, et pouvant interférer avec d'autres caractères (Plomion 2003). Par contre, un marqueur génétique, moléculaire ou biochimique, est toujours synonyme de locus marqueur ; le locus marqueur est un locus (séquence d'acide nucléique, ou expression de cette séquence) polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte et/ou sur les génotypes voisins (Santoni *et al.* 2000).

Par définition, un marqueur génétique est un caractère mesurable à hérédité mendélienne (Swynghedauw 2000). On distingue les marqueurs biochimiques, issus de l'expression des gènes (y compris les produits de métabolisme secondaire : isozymes, protéines, terpènes...), et les marqueurs moléculaires, qui désignent directement des séquences d'acide nucléique. Les marqueurs moléculaires représentent la dernière génération de marqueurs utilisés dans les études de diversité génétique. Ils reposent sur la mise en évidence du polymorphisme de la taille de fragments d'ADN. Les qualités attendues pour un marqueur moléculaire sont principalement un niveau de polymorphisme adéquat et une abondance élevée (Hartl 1988, Vekemans & Jacquemart 1997).

Les marqueurs moléculaires sont utilisés pour étudier la variabilité et la diversité génétique directement sur l'ADN, plutôt que sur des caractères qui sont soumis à l'environnement comme les propriétés morphologiques. Les marqueurs moléculaires sont particulièrement utiles dans les recherches sur la diversité génétique des plantes et la structure génétique des espèces (Hadrys *et al.* 1992, Rieseberg *et al.* 1993, Becerra *et al.* 2000). Ils offrent de nombreuses possibilités de révélation du polymorphisme d'ADN (Hartl 1988, Tagu & Moussard 2003, Hamon *et al.* 2003).

Selon Ferreira & Grattapaglia (1998), les marqueurs moléculaires idéaux pour les études de structuration génétique de populations sont ceux présentant les caractéristiques suivantes :

- caractère mendélien à hérédité simple,
- multi-allélique,
- codominant,
- pas d'effet épistatique (la lecture du marqueur étudié est indépendante de l'expression des autres marqueurs du génome),
- non liés génétiquement aux autres marqueurs,
- insensible aux conditions environnementales, et pas d'effet sur la croissance ou sur la reproduction sexuée,
- sélectivement neutre : quel que soit l'allèle présent au locus marqueur, la valeur sélective de l'individu est la même,
- facilement observable et sans ambiguïté,
- reproductible d'une expérience à une autre.

Les unités de base de la génétique des populations sont les groupes d'individus possédant un pool de gènes en commun, pool considéré représentatif de tous les gènes contenus dans chacun des génotypes individuels. Le terme de population est réservé à un ensemble de plantes sur lequel certains échantillons sont étudiés. Chaque espèce ou organisme renferme une variation génétique considérable. Ce polymorphisme s'exprime à l'un ou l'autre niveau du phénotype, au sein d'une population (polymorphisme intrapopulation) ou d'une population à l'autre (polymorphisme

interpopulation) ou encore dans les deux à la fois. Les niveaux relatifs de variation au sein des populations et entre elles varient d'une espèce à une autre et dépendent à la fois de l'histoire et de la biologie de ces espèces et de leur environnement (Lucotte 1983, Hartl 1988).

3.2.2 Principe de la Polymerase Chain Reaction

La Polymerase Chain Reaction (PCR) est une technique permettant d'amplifier *in vitro* des séquences d'ADN par répétition de réactions d'élongation en présence d'amorces nucléotiques spécifiques et d'une ADN polymérase (Tagu & Moussard 2003). Cette technique, créée par Saiki *et al.* (1985), est devenue la base de nombreux marqueurs moléculaires. Son principe est relativement simple, basé sur une amplification enzymatique de l'ADN (White *et al.* 1989, Vekemans & Jacquemart 1997, Claros & Quesada 2000).

La technique PCR utilise les éléments de base de la duplication naturelle de l'ADN, mais en réalisant seulement la duplication et l'amplification de courts fragments de la molécule d'ADN, dans une simple solution qui permet l'amplification. Le processus démarre avec une augmentation de température généralement entre 90 et 95°C pour dénaturer ou séparer les deux brins d'ADN. Puis la température est ramenée approximativement entre 35 et 70°C, afin que les amorces trouvent les emplacements cible. Une fois réalisée l'alignement, la copie par la Taq polymérase commence. La température est ensuite remontée pour entamer un nouveau cycle, lequel sera répété un certain nombre de fois selon les nécessités de l'étude et la technique à employer. On obtient finalement un produit spécifique amplifié, lequel sera révélé par électrophorèse sur gel (Vekemans & Jacquemart 1997, de Vienne 1998, McPherson & Moller 2000).

3.2.3 Description de la technique RAPD

La technique RAPD est l'une des méthodes les plus utiles pour identifier le polymorphisme génétique d'organismes vivants (Hartl 1988). Williams *et al.* (1990) ont décrit un nouveau marqueur génétique inspiré de la PCR permettant l'amplification au hasard de segments d'ADN en utilisant une seule amorce de petite taille (généralement 10 nucléotides). Ils ont appelé cette technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, polymorphisme d'ADN par amplification aléatoire) ou AP-PCR (Arbitrary Primed PCR) développée simultanément par Welsh & McClelland (1990).

La technique RAPD est une méthode simple qui consiste en une amplification enzymatique de l'ADN à l'aide d'amorces de petite taille choisie aléatoirement. Elle demande peu d'investissement technique et permet d'obtenir rapidement des fragments variés d'ADN génomique fournissant beaucoup de polymorphisme (Lynch & Milligan 1994, Hadrys *et al.* 1992). Les conditions de préparation des échantillons et des cycles de PCR doivent être optimisées pour chaque application afin d'assurer la reproductibilité des résultats (Tagu & Moussard 2003). Le polymorphisme de la présence ou l'absence des fragments est donc étudié chez les différents individus de la population. Chez la plupart des organismes, il est courant d'identifier un grand nombre de RAPDs qui peuvent servir de marqueurs génétiques dans différentes sortes d'études génétiques (Hartl 1988). Dans une réaction RAPD, l'unique espèce d'amorces est liée à l'ADN génomique en deux sites différents et opposés sur les brins de l'ADN matrice. Si les sites d'amorçage sont à une distance permettant l'amplification (à moins

de 3000 pb selon Santoni *et al.* 2000, jusqu'à 5.000 pb d'après Tagu 2003), et s'il existe une homologie totale ou partielle entre l'ADN matrice et l'amorce à chacune des deux extrémités de la zone à amplifier, un produit d'amplification est formé (Tingey & del Tufo 1993).

Les marqueurs moléculaires ont montré qu'ils étaient plus informatifs dans les études de diversité génétique que les marqueurs enzymatiques, même si certains d'entre eux, comme la RAPD, apportent moins d'information car ils sont dominants (Hillis *et al.* 1996, Williams *et al.* 1990). Les marqueurs RAPD demandent donc plus d'attention lors de l'interprétation des résultats, et ne peuvent fournir toutes les informations qu'apportent les marqueurs codominants (Linch *et al.* 1994). La technique RAPD semble avoir au niveau génétique un grand potentiel car elle fournit un grand nombre de fragments par amorce et révèle beaucoup de polymorphisme. De plus, les amorces sont universelles à travers les groupes taxonomiques (Hillis *et al.* 1996). Comme le précisent Rieseberg *et al.* (1993), les méthodes moléculaires sont plus concluantes que les méthodes morphologiques et chimiques pour étudier la diversité génétique. La technique RAPD s'est rapidement répandue parce qu'elle fournit un outil pour l'analyse génétique rapide de systèmes biologiques qui n'ont pas précédemment bénéficié de marqueurs moléculaires (Hadrys 1992, Tingey & del Tufo 1993). Les marqueurs RAPD sont particulièrement utilisés dans les études de diversité génétique et de conservation des ressources génétiques des espèces cultivées et sauvages apparentées (Fofana *et al.* 1997, Fofana 1999, Ferguson *et al.* 1998a,b).

3.3 Matériel et méthodes

3.3.1 Zone d'étude et matériel végétal

Bordé à l'est et à l'ouest par les cordillères andines, l'Altiplano bolivien s'étend du lac Titicaca au nord (16°S) au Salar d'Uyuni au sud (21°S), couvrant une superficie de presque 100.000 km² à une altitude comprise entre 3600 et 4200 mètres. Des pluies faibles et irrégulières, des gelées fréquentes et des sols pauvres constituent des contraintes sévères pour la production agricole de l'Altiplano (Le Tacon, Vacher 1998). Un gradient nord-sud de précipitations et températures décroissantes différencie trois principaux secteurs écologiques: les rives du lac, l'Altiplano central, et la région du Salar. Un quatrième secteur agro-écologique relié à l'Altiplano est constitué par les vallées inter andines tempérées que recoupe la cordillère orientale. Huit populations de quinoa, représentatives de ces quatre secteurs agroécologiques, ont été échantillonnées avec deux populations par secteur (Tableau 3-1, Figure 3-1). Ces populations ont très probablement subi des pressions de sélection différentes tant de la part des milieux naturels, contrastés, que du fait du processus de domestication qui, dans le sud par exemple, a été récemment réactivé par la sélection d'écotypes conformes au standard commercial de la quinoa "*Rea*". Dans chaque population, des graines ont été collectées sur les panicules de 10 individus de la forme cultivée, et 1 à 3 individus de la forme spontanée ("*ajara*" en dialecte local) quand celle-ci était présente. Les échantillons sont restés individualisés par plante-mère et n'ont donc pas été mélangés par population.

Tableau 3-1 Localisation des sites d'échantillonnage pour l'étude de la structure génétique des populations de quinoa de l'Altiplano bolivien.

Population	Secteur écologique	Localité	Altitude (m)	Longitude E - Latitude S
<i>njo</i>	Nord (lac)	Pacharia	3909	68°52'60" - 15°53'03"
<i>nra</i>	Nord (lac)	Japuraya	3835	68°43'59" - 16°03'06"
<i>cep</i>	Centre (plaine)	Sivicani	3746	68°08'52" - 16°59'30"
<i>cig</i>	Centre (plaine)	Park'o	4172	68°31'01" - 16°57'22"
<i>sin</i>	Sud (salar)	Karuta	3684	67°54'10" - 19°37'51"
<i>sjl</i>	Sud (salar)	Pachincha	3713	67°39'36" - 20°46'27"
<i>vjd</i>	Vallée interandine	Ujti Churo	3242	65°18'29" - 19°40'41"
<i>vse</i>	Vallée interandine	Sepultura-Puna	3627	65°35'29" - 19°51'23"

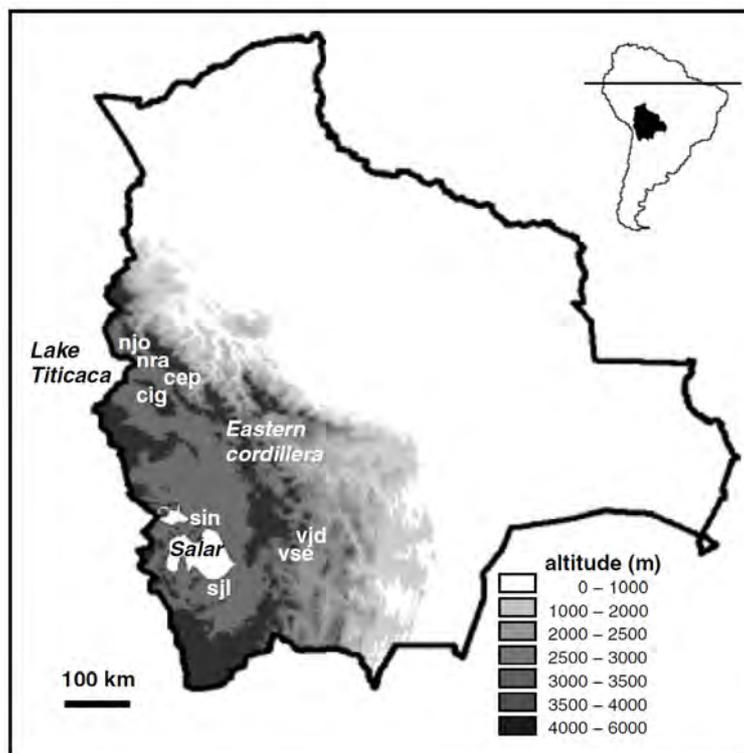


Figure 3-1 Localisation des 8 populations de quinoa échantillonnées sur l'altiplano bolivien (les codes de population sont les mêmes que pour le tableau 3-1).

Dans chaque parcelle échantillonnée, les plantes ont été choisies en fonction de la proportion relative des différents morphotypes observables (feuilles et/ou panicules de diverses couleurs ou formes). Les graines ont été mises à germées en serre (env. 20°C, et 70% d'humidité relative, sous lumière naturelles), et une plantule par famille (*i.e.* provenant d'une plante-mère donnée) a été prélevée au hasard, puis nettoyée des vésicules d'oxalate couvrant l'épiderme foliaire et stockée à -80°C jusqu'au moment d'extraire l'ADN. Au total, 87 plantules ont ainsi été échantillonnées, dont 76 provenant de plantes de type cultivé et 11 de plantes de type spontané.

3.3.2 Extraction de l'ADN

La quantité et la qualité de l'ADN utilisable pour l'analyse dépendent largement des techniques employées pour la collecte et la préservation du matériel végétal avant l'extraction. Ceci est particulièrement important pour les espèces produisant de grandes quantités de métabolites secondaires (polyphénols, terpènes, résines ou polysaccharides) qui souvent empêchent une bonne extraction de l'ADN. L'utilisation d'échantillons frais collectés dans la phase active de croissance de la plante donne généralement de meilleurs résultats (Black-Samuelsson *et al.* 1997, Ferreira & Grattapaglia 1998). La méthode d'extraction de l'ADN n'est pas particulièrement importante, quoique la durée de vie de l'ADN extrait dépende de la technique d'extraction et des conditions de stockage (Lowe *et al.* 1996). Diverses techniques ont été développées par plusieurs auteurs qui sont devenues des références en la matière (*e.g.* Doyle & Doyle 1987, Doyle & Doyle 1990, Edwards *et al.* 1991). Par ailleurs, il existe des kits d'extraction commercialisés par des firmes spécialisées (*e.g.* Genra Systems Puregene DNA isolation Kit, DNeasy Plant Mini Kit de Qiagen, Viogene Plant Genomic DNA Extraction System Kit), lesquels permettent principalement une meilleure utilisation du temps et augmentent la quantité d'ADN extrait.

Trois protocoles d'extraction de l'ADN total ont été testés pour déterminer le type d'extraction pouvant fournir la meilleure qualité et quantité d'ADN, ainsi que les meilleures amplifications. Les trois méthodes d'extraction testées ont été : 1) l'extraction au CTAB (bromure de cetyltriméthylammonium) de Doyle & Doyle (1990), 2) l'extraction au CTAB de Doyle & Doyle modifié (Ouédrago 2003) et 3) l'extraction par le kit DNeasy Plant Mini kit QIAGEN.

3.3.2.1 Méthode d'extraction retenue

Les protocoles d'extraction d'ADN au CTAB de Doyle & Doyle (1987) et celui de Doyle & Doyle modifié (Ouédrago 2003) ont donné des résultats irréguliers et ont été, par conséquent, rejetés. Le principal problème des extractions classiques avec la méthode au CTAB de Doyle & Doyle était l'obtention, après le passage au bain-marie, d'un tampon plus ou moins visqueux selon les méthodes et difficile à prélever. Les deux méthodes fournissaient un tampon verdâtre visqueux qui ne permettait pas de poursuivre l'extraction et d'obtenir l'ADN. Les protocoles donnaient de l'ADN propre mais toujours avec des individus contaminés par un peu de polysaccharides, et un rendement assez variable de 40 µl à 10 µl d'ADN.

De son côté, le kit QIAGEN avec mini colonne a fourni un ADN exempt d'impuretés et avec des rendements réguliers et plus abondants de 150 µl d'ADN. La méthode était plus facile, ne prenait

qu'une journée et permettait de quantifier et utiliser immédiatement l'ADN pour l'amplification PCR. L'amplification du kit QIAGEN était nette, régulière et a donné d'excellents résultats pour l'extraction d'ADN de quinoa. Cette méthode a donc été retenue malgré son coût plus élevé.

3.3.2.2 Qualité, quantité et amplification d'ADN

L'ADN total extrait par les différentes méthodes, et bien entendu pour la méthode d'extraction retenue ou lors des analyses de routine, a été soumis à électrophorèse sur gel d'agarose 0,6% et visualisé sous lumière UV après coloration au bromure d'éthidium. La quantité d'ADN a été estimée par rapport à un marqueur moléculaire de référence (High DNA mass ladder, Invitrogen) par comparaison visuelle de la luminosité des bandes. L'ADN a été conservé au réfrigérateur à 4°C pendant de courtes durées (1-2 jours). Pour des durées de conservation plus longues, il a été conservé au réfrigérateur à -20°C. La quantité finale d'ADN extrait variait de 10 ng/3µl à 40 ng/3µl et, il n'a pas été nécessaire de faire de dilution car le test d'amplification a montré des amplifications régulières.

L'ADN a été amplifié par une réaction PCR selon le principe général d'une RAPD du type classique (Williams 1990). Les réactions RAPD ont été réalisées dans un volume final de 25 µl comprenant : 1,2 ng/µl (30 ng) d'ADN⁴, le tampon 1X (fourni avec la Taq); 1,5 mM MgCl₂⁵; 200 µM dNTP⁶; 200 µg/ml de BSA⁷; 0,4 µM (10pm) d'amorces⁸ (QIAGEN Operon Technologies Alameda, USA); 11,8 µl d'H₂O⁹, et 1U de Taq¹⁰ polymérase (Amersham Biosciences). Un contrôle négatif sans ADN a été inclus dans chaque cycle de réaction.

Le programme d'amplification comprend 5 étapes : une dénaturation initiale (1), une dénaturation (2), une hybridation (3), une élongation (4) et une élongation finale (5). Les étapes 3, 4 et 5 sont répétées un certain nombre de fois, c'est le cycle proprement dit. Nous avons sélectionné un programme d'amplification couramment utilisé au laboratoire d'Écologie qui a déjà été testé chez *Quercus robur*, *Quercus petraea* et *Viola calaminaria* (Bizoux 2002, 2003). Les réactions d'amplification ont été conduites sur un thermocycleur (Biozym PTC 200) programmé pour une première dénaturation à 95°C pendant 120 sec, pour 44 cycles comportant une étape de dénaturation de 20 sec à 94°C, une étape d'hybridation de 60 sec à 36°C et une étape d'élongation de 60 sec à 72°C, et enfin pour une

⁴ L'ADN, il s'agit d'une quantité donnée de la solution d'ADN extrait. Il faut en général 25 à 50 ng d'ADN dans le milieu réactionnel.

⁵ Des ions Mg²⁺, généralement apportés par une solution de chlorure de magnésium MgCl₂. L'ion Mg²⁺ est un cofacteur essentiel de la Taq polymérase.

⁶ dNTP, nucléotides libres dans le milieu indispensables à l'élongation des amorces hybridées. Les concentrations courantes de dNTP sont de l'ordre de 100 à 200 µM pour chaque type de dNTP.

⁷ BSA (albumine sérum de bovin), apparemment dans la technique RAPD il stabilise la Taq polymérase, et protège des impuretés pouvant être dans l'ADN génomique ainsi que des ions présents à la surface de certains types de plastiques utilisés dans la fabrication des micro tubes.

⁸ L'amorce, c'est le fragment d'ADN de séquence connue destiné à s'hybrider aux extrémités des séquences à amplifier. Il est suggéré d'adopter une concentration en amorce variant entre 0,1 et 2,0 µM.

⁹ De l'eau distillée autoclavée, débarrassée de toute impureté.

¹⁰ La Taq polymérase, enzyme indispensable à la réaction d'élongation des amorces. Selon Jones *et al.* (1997 d'une analyse RAPD. Les protocoles standards recommandent des quantités de l'ordre, le seul fait de modifier la provenance de la Taq peut affecter considérablement les résultats de la répétabilité de 2,5 U/100 µl de PCR.

élongation finale de 600 sec à 72°C. Les produits d'amplification ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,8%, et les bandes de l'ADN ont été détectées grâce au bromure d'éthidium et visualisées sous radiation UV. Les tailles moléculaires ont été estimées par le marqueur GeneRuler, 100 bp DNA Ladder Plus (MBI Fermentas). Dans notre travail, toutes les amorces ont été sélectionnées et amplifiées sur ce cycle. Lorsqu'une amorce n'amplifiait pas, nous avons préféré changer d'amorce plutôt que de modifier les paramètres du cycle pour obtenir une amplification. Comme l'efficacité d'extraction varie d'un échantillon à l'autre et que les rendements d'amplification d'une PCR varient avec la quantité d'ADN, une gamme de 10 à 120 ng par 3 µl d'ADN a été testée. Les amplifications les plus précises ont été obtenues avec 30 ng/3µl.

Tableau 3-2 Liste des séquences des 10 amorces retenues.

N°	Amorce	Séquence (5' →3')
1	OPA-2	TGCCGAGCTG
2	OPH-3	AGACGTCCAC
3	OPH-5	AGTCGTCCCC
4	OPO-5	CCCAGTCACT
5	OPO-15	TGGCGTCCTT
6	OPR-10	CCATTCCCCA
7	OPR-13	GGACGACAAG
8	OPS-3	CAGAGGTCCC
9	OPS-20	TCTCCACGGA
10	OPT-7	GGCAGGCTGT

Au total, 34 amorces (QIAGEN Operon produits, Tableau 3-1 en annexe3) de 10 bp ont été testées. Dans une première étape, les 34 amorces ont été passées sur 6 individus et un blanc. Dans une deuxième étape, 12 amorces sélectionnées ont été testées sur deux populations complètes (10 individus) pour vérifier leur sélection sur les mêmes critères : distinction des bandes, intensité des bandes et présence de polymorphisme. Enfin, 10 amorces ont été retenues (Tableau 3-2) sur les 87 individus (8 populations).

3.3.3 Analyses des données

3.3.3.1 Analyse de la structure génétique

La partition de la diversité génétique totale entre ses différentes composantes hiérarchiques a été analysée par une AMOVA (Schneider *et al.* 2000). Cette méthode basée sur le principe d'une ANOVA permet de déterminer la distribution de la variation moléculaire à différents niveaux hiérarchiques (Tableau 3-3).

Tableau 3-3 Analyse de variance moléculaire classique à trois niveaux.

Source de la variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Variance attendue
Entre groupes (écorégions)	G-1	SSD(AG)	$n''\sigma_a^2 + n'\sigma_b^2 + \sigma_c^2$
Entre populations à l'intérieur de chaque écorégion	P-G	SSD(AP/WG)	$n\sigma_b^2 + \sigma_c^2$
A l'intérieur des populations	N-P	SSD(WP)	σ_c^2
Total	N-1	SSD(T)	σ_T^2

où :

G = nombre de groupes,

P = nombre total de populations,

N = nombre total d'individus étudiés, toutes populations confondues.

Et, sachant que :

N_p = nombre d'individus dans la population p ,

N_g = nombre d'individus dans le groupe g ,

On a :

$$S_G = \sum_{g \in G} \sum_{p \in P} \frac{N_p^2}{N_g}, \text{ et alors :}$$

$$n = \frac{N - S_G}{P - G}, \quad n' = \frac{S_G - \sum_{p \in P} \frac{N_p^2}{N}}{G - 1}, \quad n'' = \frac{N - \sum_{p \in P} \frac{N_p^2}{N}}{G - 1}$$

Où n , n' et n'' sont les coefficients de calcul de la variance attendue aux différents niveaux hiérarchiques.

À partir de la répartition de la variation génétique au sein des niveaux hiérarchiques, l'AMOVA permet de générer des indices de fixation (F) entre deux niveaux hiérarchiques, l'un étant inclus dans l'autre. Il s'agit essentiellement d'une mesure de la différenciation génétique d'un niveau par rapport à un autre dans lequel il est lié. Avec le modèle d'AMOVA à trois niveaux hiérarchiques, trois indices de fixation peuvent être calculés puis testés afin de déterminer si chaque composante est significativement différente de 0 :

- $F_{CT} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}$ pour la composante entre groupes (σ_a^2)

- $F_{SC} = \frac{\sigma_b^2}{\sigma_b^2 + \sigma_c^2}$ pour la composante entre populations à l'intérieur des groupes (σ_b^2)

- $F_{ST} = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_b^2}{\sigma_T^2}$ pour la composante à l'intérieur des populations (σ_c^2)

La probabilité (P) du test F est calculée par permutation (10000) des individus, et construction d'une distribution théorique à laquelle la valeur observée est comparée. La valeur observée est considérée comme significativement différente si elle se situe dans les 5% de valeurs extrêmes de la distribution aléatoire théorique ($\alpha = 0,05$).

L'analyse de la variance moléculaire a été réalisée à partir de la matrice des distances euclidiennes moléculaires entre les différentes paires d'individus. Trois types d'analyses ont été réalisés à l'aide du programme Arlequin version 2.0 :

- la différenciation entre les formes cultivées et sauvages a été évaluée en regroupant tous les individus de chaque forme dans un seul groupe. Les niveaux hiérarchiques de variation considérés sont donc inter- et intra formes.
- la différenciation globale entre les populations a été évaluée en considérant deux niveaux hiérarchiques de variation (inter- et intra-populations).
- l'importance de la différenciation entre les écorégions a été évaluée en considérant trois niveaux hiérarchiques de variation (écorégions, inter- et intra-population).

3.3.3.2 Patrons géographiques de la diversité génétique

Afin d'établir les relations entre les populations individuelles et les écorégions, une analyse en groupement des populations a été réalisée sur la base de la distance génétique entre populations prises deux à deux. La matrice de distance a été construite à partir de l'estimation du F_{ST} entre populations prises deux à deux. Un dendrogramme a été construit à partir de la matrice des F_{ST} par la technique de groupement du lien moyen (UPGMA).

Afin d'évaluer la différenciation inter populations due à l'isolement géographique entre populations, un test d'isolement par la distance géographique a également été réalisé. Le test effectué par le programme Arlequin est un test de Mantel calculant un coefficient de corrélation entre la matrice F_{ST} et la matrice de distance géographique.

3.3.3.3 Organisation de la diversité génétique à l'échelle des individus

Afin de visualiser les relations génétiques entre tous les individus étudiés, une matrice de distance a été obtenue par le calcul de l'indice de la distance d'agrégation (carré de Distance de Dice équivalent à la Distance de Nei) entre les individus pris deux à deux. Un dendrogramme a été construit à partir de la matrice d'agrégation par regroupement sur la base de la méthode du lien moyen (UPGMA), plus adaptée aux données qualitatives que la méthode de Ward plutôt adaptée aux données quantitatives (Palm 1996, Hair *et al.* 1999). Ces traitements ont été réalisés d'une part sur Statistica version 2002 pour le calcul de la matrice, et sur XL-STAT pour les dendrogrammes.

3.3.3.4 Diversité génétique moyenne des populations

La diversité génétique moyenne des populations a été estimée à l'aide de deux variables : la première est la proportion de sites polymorphes ($\hat{\pi}$) par rapport au nombre de bandes polymorphes obtenues, et la seconde est l'indice de diversité génétique moyenne ($V(\hat{\pi}_n)$), qui donne une estimation de la moyenne de la diversité génétique sur l'ensemble des loci. Ces deux variables ont été calculées comme suit :

$$\hat{\pi} = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j<i} p_i p_j \hat{d}_{ij}}{L} \text{ et } V(\hat{\pi}_n) = \frac{n+1}{3(n-1)L} \hat{\pi}_n + \frac{2(n^2+n+3)}{9n(n-1)} \hat{\pi}_n^2$$

3.4 Résultats

3.4.1 Différentiation entre formes spontanées et cultivées

Lorsque les individus ont été groupés par formes (cultivée ou spontanée), l'AMOVA a révélé que 8.6% ($p < 0.001$) de la variabilité totale était due à la différence entre formes et 91.4% à la variation à l'intérieur des formes. Bien que cette différence entre formes soit statistiquement significative, les individus ne se regroupent pas selon leur forme sur le dendrogramme UPGMA (Figure 3-2). Les individus de forme spontanée ont tendance à se regrouper avec ceux de la forme cultivée appartenant au même groupe régional. C'est le cas des individus NJO01 et NJO02 du groupe A « Altiplano nord et central », des individus VSE01, VSE02 et VSE03 du groupe « vallée inter andine », et des individus SJL01, SJL02, SJL03, SIN01, SIN02, SIN03 du groupe C « altiplano sud ». Il n'y avait donc pas de séparation nette entre formes spontanées et cultivées.

3.4.2 Structure génétique des populations

L'analyse de la structure génétique des populations a été réalisée deux fois : une première fois en incluant les individus sauvages dans les populations, une seconde fois en ne tenant pas compte des individus spontanés. Les résultats obtenus n'étaient pas significativement différents. Du fait de la faible différenciation entre formes cultivée et spontanée, seuls les résultats concernant l'ensemble des individus (*i.e.* incluant ceux de forme spontanée) sont présentés dans le Tableau 3-4.

Tableau 3-4 Analyse de variance moléculaire à deux niveaux hiérarchiques.

Source de la variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Variance attendue	Pourcentage de variation (%)
Entre populations	7	269,203	3,257	51,23 (P=0,000)
A l'intérieur des populations	79	244,912	3,100	48,77 (P=0,000)
Total	86	514,115	6,357	

L'analyse de variance à deux critères hiérarchiques (intra- et inter-populations) montre que les deux sources de variation sont hautement significatives ($p = 0,000$) et que la variation moléculaire se répartit de façon pratiquement égale entre les deux niveaux (respectivement 48,8 et 51,2%).

L'examen des F_{ST} par paire de populations (Tableau 3-5) montre qu'il existe des différences significatives entre toutes les populations prises deux à deux, toutes les probabilités associées étant en effet inférieures à 0,05. Les F_{ST} entre paires de populations varient de 0,115 à 0,699, la valeur minimale s'observant entre les deux populations de la vallée inter-andine (*vjd* et *vse*), tandis que la valeur maximale apparaît entre *cig* et *sin*, populations qui proviennent respectivement du centre et du sud de l'Altiplano. Ces couples de distances génétiques extrêmes ne correspondent pas aux distances géographiques extrêmes observées entre *njo* et *nra* (21,5 km) et *njo* et *vjd* (561,8 km).

Tableau 3-5 Matrice des F_{ST} et des distances en kilomètres entre les populations étudiées.

F_{ST}	Distance km							
	<i>njo</i>	<i>nra</i>	<i>cep</i>	<i>cig</i>	<i>vjd</i>	<i>vse</i>	<i>sjl</i>	<i>sin</i>
<i>njo</i>		21,5	145,9	124,8	561,8	561,2	556,9	427,8
<i>nra</i>	0,443		121,5	102,8	537,8	536,8	535,0	406,3
<i>cep</i>	0,329	0,507		39,4	417,5	416,4	421,3	492,8
<i>cig</i>	0,464	0,302	0,554		448,9	445,7	432,9	303,0
<i>vjd</i>	0,423	0,526	0,399	0,547		37,7	275,1	270,9
<i>vse</i>	0,552	0,646	0,543	0,670	0,115		238,6	243,5
<i>sjl</i>	0,477	0,590	0,519	0,634	0,345	0,472		128,9
<i>sin</i>	0,519	0,647	0,555	0,699	0,339	0,458	0,192	

La corrélation entre la matrice de distance génétique et la matrice de distance géographique entre populations est statistiquement significative ($p = 0,016$ pour le test Mantel). Néanmoins, la valeur du coefficient de corrélation ($r = 0,28$) est faible. La part de la variation dans la matrice de F_{ST} qui est expliquée par la distance géographique n'est que de 7,8%.

L'AMOVA à trois niveaux hiérarchiques incluant l'effet écorégion montre que 27,1% de la variation génétique totale sont dû à l'effet écorégions. Cette valeur est significativement différente de 0 ($F_{CT} = 0,27$; $p = 0,019$). La différenciation génétique entre populations à l'intérieur de chaque écorégion est de 25,2%, très significativement différente de 0 ($F_{SC} = 0,34$; $p = 0,000$). La variation intra-population reste prédominante avec une contribution de 47,7% de la variation génétique totale (Tableau 3-6).

Tableau 3-6 Analyses de variance moléculaire à trois niveaux hiérarchiques.

Source de la variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Variance attendue	Pourcentage de variation (%)
Entre écorégions	3	180,895	1,791	27,12 (P=0,000)
Entre populations à l'intérieur de chaque écorégion	4	84,315	1,663	25,18 (P=0,000)
A l'intérieur des populations	79	248,905	3,151	47,70 (P=0,000)
Total	86	514,115	6,605	

Le dendrogramme basé sur les F_{ST} entre paires de populations (Figure 3-2) permet de distinguer un effet de structuration géographique où les populations du nord et du centre de l'Altiplano (groupe 1) se rapprochent, et se caractérisent par une importante variation génétique intra-population avec un niveau de dissimilarité de 32%. Par contre, le groupe populationnel 2 de vallée montre une faible variation génétique avec un niveau de dissimilarité de 11%, tandis que le groupe 3 du sud de l'Altiplano présente un niveau de dissimilarité intermédiaire de 20%.

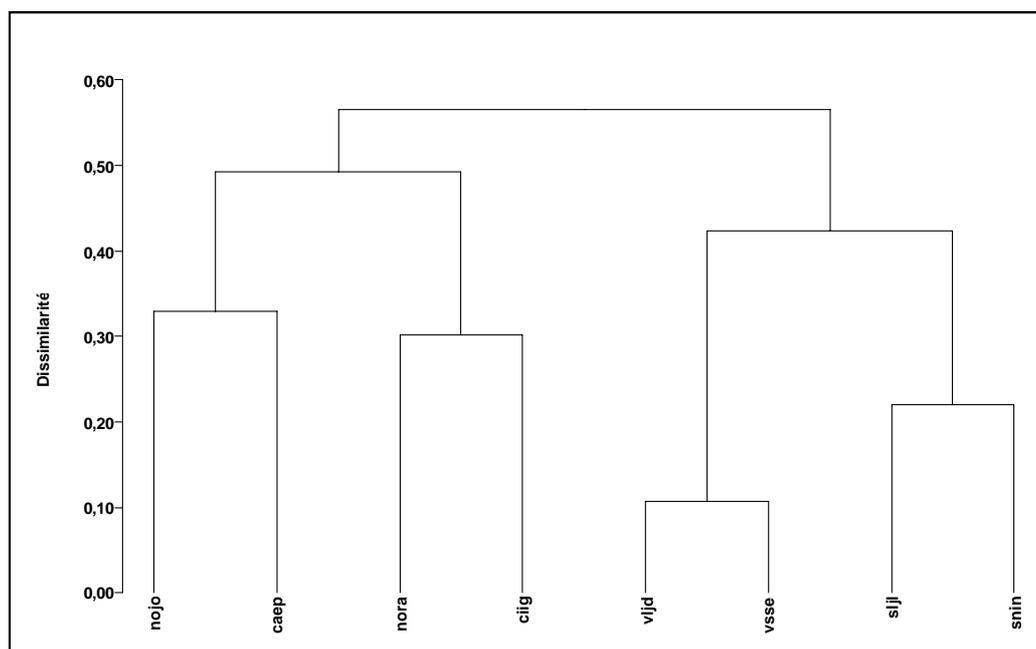


Figure 3-2 Dendrogramme UPGMA des 8 populations de quinoa sur la base des marqueurs RAPD.

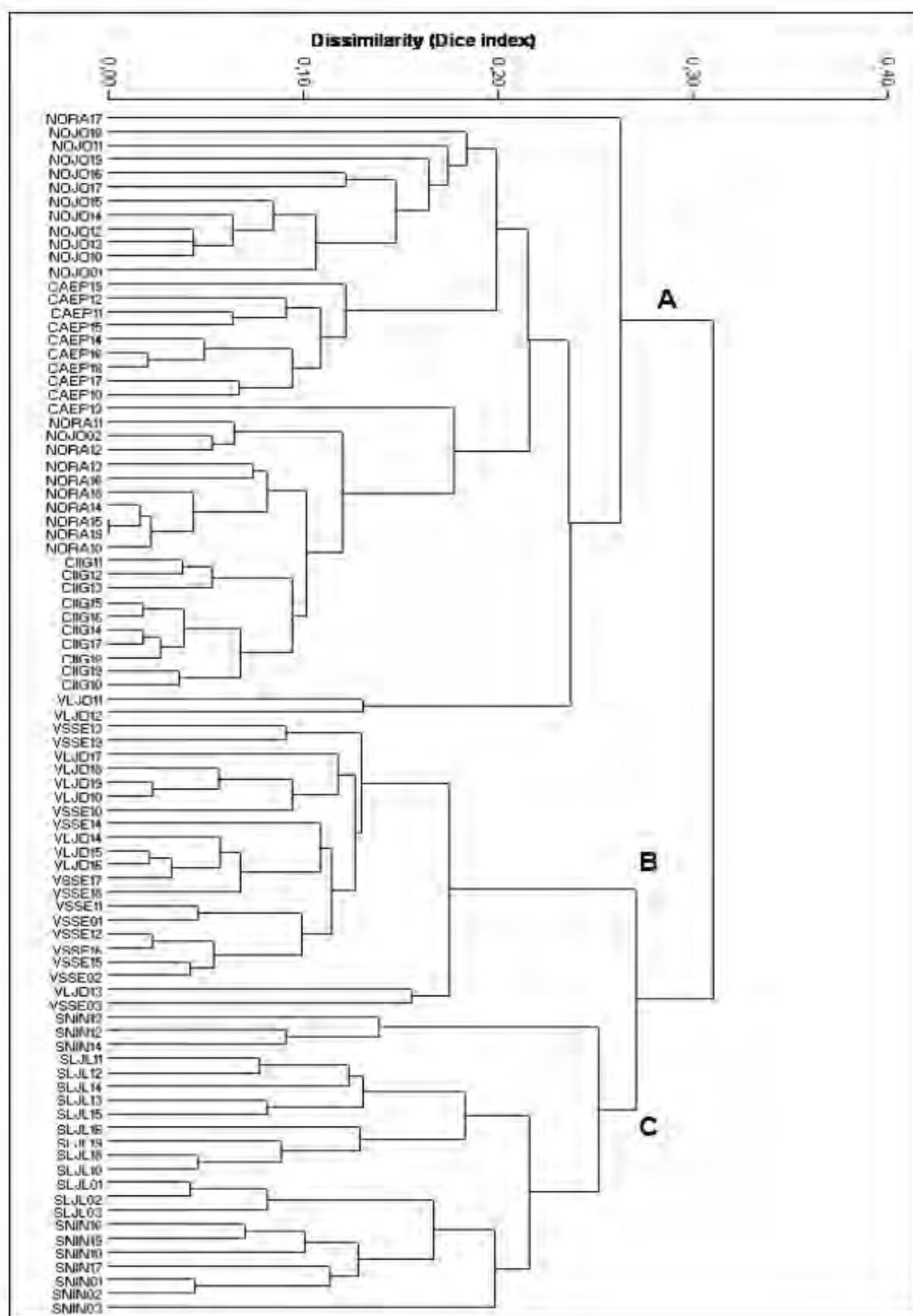


Figure 3-3 Dendrogramme UPGMA des 87 individus de quinoa sur la base des marqueurs RAPD (groupe A : Altiplano nord et centre, groupe B : vallée interandine, groupe C : Altiplano sud).

Le dendrogramme réalisé pour les 87 individus étudiés (Figure 3-3) permet de visualiser la position relative des individus au sein de chaque population dans les 4 écorégions étudiées. L'analyse du dendrogramme permet de distinguer trois grands groupes. Le premier (groupe 1) comprend principalement des individus de l'Altiplano nord et central, avec une distinction de deux sous-groupes, l'un constitué par une population du nord de l'Altiplano riveraine du Lac Titicaca (*njo*) et une population de la plaine centrale (*cep*), l'autre représenté par une population riveraine du lac (*nra*) et une population d'une zone élevée et accidentée de l'Altiplano central (*cig*, 4172 m d'altitude). Dans ce groupe figurent aussi deux individus d'une population de vallée (*vjd11* et *vjd12*). Le deuxième groupement (groupe 2) ne contient que des individus des populations de la vallée de Potosi (*vjd* et *vse*), et le troisième (groupe 3) que des individus du sud de l'Altiplano (*sjl* et *sin*). La structure du dendrogramme correspond dans l'ensemble à une structure populationnelle, bien que les individus des deux populations de vallée se mélangent dans un seul et même groupe, avec deux individus reclassés hors de leur groupe populationnel. Cela suggère une structuration populationnelle avec des populations homogènes et isolées génétiquement les unes des autres. Les niveaux de dissimilarité entre groupes géographiques restent cependant faibles (10% au maximum), et une grande diversité génétique intra-populationnelle est observée avec des niveaux de dissimilarité entre individus qui varient de 0% à 27%.

L'ensemble des résultats est cohérent et montre une forte différenciation génétique entre toutes les populations étudiées. Les résultats de l'AMOVA à trois niveaux hiérarchiques (Tableau 3-6) incluant l'effet géographique et ceux du test Mantel sont assez complémentaires. Ils confirment l'analyse des dendrogrammes et permettent de tirer la conclusion suivante : pris dans leur ensemble, sur une aire géographique vaste, les populations montrent une différenciation génétique liée à la structuration écorégionale mais pas à la distance géographique. L'effet de la distance géographique est en partie masqué par la proximité génétique plus importante des populations des régions nord et centrale par rapport aux autres régions. Ceci se traduit dans le regroupement des populations et le regroupement des individus de ces régions au sein des dendrogrammes alors que les populations et les individus des autres régions se regroupent strictement en fonction de leur appartenance à une région éco-géographique particulière (vallée ou sud de l'Altiplano).

3.4.3 Diversité génétique des populations

Le Tableau 3-7 présente la diversité génétique moyenne des populations estimées par la proportion de sites polymorphes (par rapport au nombre de bandes polymorphes obtenues) et l'indice de diversité génétique moyenne.

La proportion de sites polymorphes par population varie de 24,0 à 60,5% avec une moyenne au niveau population de 45,4%. L'indice de diversité génétique des populations individuelles varie de 0,104 à 0,215 avec une moyenne de 0,165.

On n'observe pas de variation évidente de la diversité génétique en relation avec les écorégions. Cependant, les deux paramètres de diversité sont pourtant plus élevés dans l'Altiplano sud (proportion de sites polymorphes = 60,5 et 42,1; indice de diversité génétique = 0,208 et 0,191 pour *sjl* et *sin*

respectivement) et, de façon moins nette, plus faibles dans l'Altiplano central (proportion de sites polymorphes = 24,0 et 47,4 ; indice de diversité génétique = 0,104 et 0,149 pour *cig* et *cep* respectivement) que dans les autres régions.

Tableau 3-7 Diversité génétique au sein de 8 populations de quinoa de l'altiplano bolivien.

Population	Pourcentage de bandes polymorphes	Diversité génétique moyenne +/- écart-type
<i>noj</i>	55,3	0,182 +/- 0,104
<i>nra</i>	44,7	0,143 +/- 0,085
<i>cep</i>	47,4	0,149 +/- 0,089
<i>cig</i>	24,0	0,104 +/- 0,064
<i>vjd</i>	55,3	0,215 +/- 0,123
<i>vse</i>	34,2	0,125 +/- 0,074
<i>sjl</i>	60,5	0,208 +/- 0,117
<i>sin</i>	42,1	0,191 +/- 0,110
Moyenne entre populations	45,44	0,165
Formes cultivées	89,5	0,311 +/- 0,157
Formes spontanées	71,1	0,288 +/- 0,160

3.5 Discussion

3.5.1 Relations entre marqueurs moléculaires

Une étude comparée de marqueurs moléculaires menée par Nybom (2004) au sein et entre populations de mêmes espèces, résume bien les avantages et inconvénients des marqueurs dominants (RAPD, AFLP, ISSR) et codominants (microsatellites) : 1) les estimations de la différenciation génétique entre populations sont similaires pour les deux types de marqueurs (dominants et codominants) ; 2) la variation génétique au sein des populations est trois fois plus importante avec les marqueurs codominants qu'avec les marqueurs dominants ; 3) les résultats fournis par les différents types de marqueurs dominants sont très similaires, tandis que ceux obtenus par les microsatellites s'avèrent significativement dépendants du nombre de loci considérés. Si nous considérons simplement l'aspect différenciation génétique, nous pouvons donc admettre que l'usage de marqueurs RAPD pour cette étude-ci est tout à fait pertinent. Schneider *et al.* (2000) signalent que

l'indice de diversité génétique moyenne et la proportion de bandes sont positivement corrélés, surtout lorsqu'on a fait usage de marqueurs codominants permettant alors d'estimer la richesse allélique plutôt que simplement l'importance des bandes polymorphes.

Nos résultats en matière d'indices de différenciation génétique (F_{ST} notamment) et de diversité génétique moyenne sont statistiquement similaires à ceux obtenus par Nybom (2004), Ouedrago (2003) et Zoro Bi (1999).

3.5.2 Comparaison entre les formes spontanées et cultivées de quinoa

Des études antérieures comparant formes spontanées et cultivées de quinoa se sont fondées sur la comparaison d'accessions (Ruas *et al.* 1999) ou de populations pures de chaque forme (Wilson 1981, 1988a-c). Dans notre étude, ce sont des individus des deux formes, vivant en sympatrie dans des champs cultivés, qui ont été comparés. Ni les études antérieures sur des accessions, ni celles sur des populations locales n'ont prouvé la séparation taxonomique des formes spontanées et cultivées de *C. quinoa*. Nos résultats sont conformes à cette conclusion puisque nous avons observé un niveau significatif mais très faible de différenciation entre les deux formes. De fait, la différenciation entre populations s'est avérée beaucoup plus importante que celle entre formes, ce qui pourrait s'expliquer par le flux de gènes significatif qui a pu être mesuré au champ entre quinoas spontanées et cultivées (Samañez 1977, Wilson & Manhart 1993). Par ailleurs, nous avons trouvé que les individus de la forme spontanée étaient plus proches de ceux de la forme cultivée de leur région d'origine que d'autres individus spontanés d'autres régions. Les études à partir d'accessions (Ruas *et al.* 1999) et de populations locales (Wilson 1981, 1988a-c, le présent travail) convergent donc pour indiquer que les complexe de quinoas cultivées/spontanées des Andes forme une unité co-évolutive monophylétique. De plus, le niveau global de diversité génétique de la forme cultivée était similaire à celui trouvé dans la forme spontanée.

3.5.3 Structure génétique

Tous nos résultats s'accordent à montrer une forte différenciation génétique entre les populations étudiées. Prises dans leur ensemble et sur un vaste espace géographique, les populations de quinoa ont montré un patron de différenciation génétique en relation avec l'écogéographie régionale, et dont une faible partie seulement s'explique par la distance géographique. L'effet de distance a été partiellement masqué par la proximité génétique des populations des régions nord et centre comparées aux autres écorégions. Ceci s'est traduit sur le dendrogramme par le regroupement des individus de ces régions, alors que les populations et les individus des autres écorégions (sud, vallée) se regroupaient strictement selon leur région d'origine.

Une forte différenciation génétique entre parcelles est en accord avec le mode de reproduction essentiellement autogame de l'espèce. Des échanges de graines limités entre régions géographiquement isolées sont un autre facteur de différenciation, tout comme les pratiques de culture des paysans. Selon une enquête réalisée auprès de 98 agriculteurs à travers l'Altiplano bolivien (Del Castillo 2002-2003, non publié), 96% des paysans de la vallée inter andine de Potosi et de la région du Salar sèment leurs champs avec des graines récoltées sur leurs propres exploitations,

alors que ce pourcentage tombe à 69 et 59% respectivement dans l'Altiplano nord et central. Dans ces deux secteurs, les marchés locaux ainsi que les institutions de développement agricole constituent des sources alternatives de semences. Ces données suggèrent que les échanges génétiques sont plus importants dans l'altiplano nord et central que dans les deux autres régions. À l'époque contemporaine, les réformes agraires, les migrations massives des paysans vers les villes, et le commerce international ont affecté le patron de diversité génétique de la quinoa, ce qui a pu conduire à une perte de variétés locales et à une uniformisation de la production commerciale (Laguna 2002, Zimmerer 1996). Malgré ces facteurs récents d'érosion génétique, notre étude réalisée à plusieurs niveaux d'organisation biologique indique qu'une importante diversité inter-populations se maintient sur l'altiplano bolivien. Elle correspond principalement à la différenciation géographique et climatique de la zone de culture, et permet de distinguer la quinoa de l'altiplano nord et central, de celle des vallées, et de la quinoa du Salar (Altiplano sud). Une telle conclusion n'aurait pas pu être obtenue à partir de l'étude de collections de germoplasme. En effet, Ruas *et al.* (1999) ont reporté un faible niveau de variation intra spécifique de marqueurs RAPD entre accessions de germoplasme de quinoa (provenant principalement de Bolivie). Les divergences entre la structure génétique de populations locales (collectées au champ) et celle d'accessions de germoplasme ont déjà été signalées par d'autres travaux (Djé *et al.* 1999). Selon Doebley *et al.* (1985), Morden *et al.* (1989), Djé *et al.* (1999), ce phénomène peut avoir différentes causes : 1) une faible taille des échantillons au niveau des accessions, 2) un étranglement génétique au cours de l'échantillonnage et du processus de reproduction des collections de germoplasme, et 3) des différences d'échelle spatiale entre banques de gènes et études *in situ*. Ceci montre l'importance pour la conservation génétique des espèces domestiquées d'étudier la variation génétique au sein des parcelles cultivées.

Concernant les pratiques de conservation *in situ*, nos résultats suggèrent que les parcelles individuelles ne sont pas des unités appropriées de conservation puisqu'en moyenne elles renferment moins de 50% de la variation génétique neutre totale. La conservation *in situ* de la diversité génétique de la quinoa nécessite le maintien d'un réseau de parcelles établi sur la base d'une stratégie hiérarchique, et protégeant un jeu de parcelles dans chaque écorégion. Nos résultats suggèrent également que les collections actuelles de germoplasme pourraient ne pas être représentatives de la variation génétique présente dans le complexe Quinoa et que des échantillonnages complémentaires pour la conservation *ex situ* devraient également prendre en compte la structure hiérarchique de la variation génétique au sein de l'espèce.

3.5.4 Diversité génétique des populations étudiées

Les valeurs de la diversité génétique moyenne de chacune des populations étudiées sont élevées, et comparables à celles obtenues avec des marqueurs dominants chez des espèces allogames ou à système de reproduction mixte (0,22 à 0,26 selon Nybom 2000), et très supérieures à celles attendues dans le cas de plantes autogames ou à multiplication végétative (0,09 selon Nybom 2000).

La diversité génétique, comme nous l'avons dit plus haut, est fortement corrélée au pourcentage de bandes polymorphes. En ce qui concerne les marqueurs codominants, Nybom (2004) a établi que la valeur de la diversité génétique était nettement influencée par le nombre de loci considérés, et que

cette valeur de diversité était supérieure à celle obtenue avec des marqueurs dominants. Mengoni *et al.* (2000) ont également montré que la diversité génétique révélée à l'aide de marqueurs SSR était supérieure à celle dérivée des marqueurs RAPD.

Enfin, la diversité génétique peut être vue comme une estimation du potentiel adaptatif des espèces. Dans une optique de conservation *in situ*, la prise en compte des valeurs aussi bien de diversité génétique que de différenciation entre populations est nécessaire. La variabilité génétique étant assez forte entre les diverses populations étudiées, chacune présente donc une spécificité génétique accentuée par la forte valeur de la diversité génétique observée.

3.6 Conclusion et perspectives

Cette étude a permis d'obtenir des résultats préliminaires sur la diversité et la structure génétique de la quinoa au niveau de l'Altiplano bolivien. Les résultats montrent clairement que la quinoa possède une forte structuration populationnelle et une variation intra-population élevée. Un effet de structuration géographique des populations a été mis en évidence. Il s'explique par un isolement des populations lié non pas simplement à la distance mais plus vraisemblablement aux barrières climatiques et physiques (Cordillère Centrale, Salar d'Uyuni) présentes dans la zone étudiée. Cette structuration géographique aboutit à une différenciation en trois groupes de populations : quinoas d'Altiplano nord et central, quinoas de vallée, et quinoas de Salar. Les niveaux de diversité génétique intrapopulation sont comparables à ceux obtenus sur d'autres plantes dicotylédones (Nybom & Bartish 2000), mais nettement supérieurs à ceux attendus pour une espèce principalement autogame. Les taux non négligeables de fécondation croisée mentionnés dans la littérature (jusqu'à 10%) et la présence très commune de formes sauvages à proximité ou au sein des parcelles cultivées sont des facteurs potentiels de maintien d'une forte diversité intrapopulation, diversité héritée de l'origine allotétraploïde de la quinoa.

Cette analyse quantitative de la structure de la variation génétique de la quinoa à plusieurs niveaux d'organisation biologique peut servir de point de départ pour un programme de gestion et de conservation des ressources génétiques de cette espèce encore peu étudiée et menacée d'érosion rapide de sa diversité. Sur la base de nos résultats et de ceux de la littérature, quelques recommandations peuvent être formulées concernant cette stratégie de gestion et de conservation :

- la méthode de classification UPGMA a fait ressortir trois groupes principaux de quinoa dont les représentants peuvent être sélectionnés pour une conservation *in situ* dans l'Altiplano et les vallées inter andines de Bolivie ;
- sachant que l'échelle de la parcelle regroupe près de 50% de la variabilité génétique totale des populations étudiées, il conviendrait d'évaluer la taille optimale des échantillons intrapopulation à collecter pour conserver le maximum de variabilité génétique de l'espèce ;
- la caractérisation de la structure de la variation génétique de la quinoa doit mettre à profit les développements récents concernant les marqueurs codominants (microsatellites) identifiés chez cette espèce (Maughan *et al.* 2004).

CHAPITRE 4
VARIATION PHÉNOTYPIQUE INTRA- ET INTER-POPULATIONS
DANS SEPT POPULATIONS DE QUINOA

4.1 Introduction

La connaissance des traits de la variabilité génétique peut fournir une information importante sur la façon dont les populations se comportent à l'intérieur et entre elles, en plus d'assister comme guide pour de futures collections. Dans le cas de plantes cultivées, la conservation de cette vaste variabilité constitue une contribution significative à la stabilité de la production agricole. En effet, on considère généralement que la variation entre écotypes ou variétés d'une culture permet de choisir la forme la plus adaptée aux conditions de production spécifiques à un type d'environnement. Cette variation est aussi à la base de plusieurs programmes d'amélioration génétique orientés vers la conception de variétés tolérantes à des limitations spécifiques comme par exemple la sécheresse, la salinité, ou les basses températures (Arnholdt-Schmitt 2005, Annicchiarico & Mariani 1996, Ceccarelli 1989). Au niveau de la parcelle ou de la population, la variation de production observée entre plantes est considérée généralement comme un facteur défavorable au rendement final, parce que des parcelles avec des plantes qui présenteraient toutes un niveau optimal de production auraient un rendement beaucoup plus élevé. Néanmoins, cette variation intra-population pourrait aussi être adaptative face à des variations imprévisibles de l'environnement en rapport avec le climat ou les prédateurs (e.g. De Rouw & Winkel 1998, Lambdon *et al.* 2003). Il existe par conséquent une divergence en ce qui concerne l'intérêt agronomique de la variabilité génétique.

Dans le cas de la quinoa, espèce essentiellement autogame, la variation génétique intra-population pourrait être réduite parce que l'autogamie augmente généralement l'homozygotie au niveau de la population et de la famille (= groupe d'individus descendants d'une même plante). Cependant, l'hétérogénéité dans les parcelles semées avec des variétés traditionnelles de quinoa est remarquable et pourrait être attribuée, en partie, à l'existence de flux continus de gènes entre formes cultivées et sauvages (Wilson 1981, Wilson & Manhart 1993, Del Castillo *et al.* 2007). Les études sur la diversité génétique en quinoa sur la base de marqueurs morphologiques incluent : Risi & Galway (1989) sur les patrons de la diversité génétique dans les Andes, Bonifacio (1992a) sur l'héritage mendélien de la couleur de grains et de feuilles, Canahua Murillo *et al.* (2004) sur les classifications de cultivars péruviens par les agriculteurs, et Bhargava *et al.* (2006) sur les caractéristiques morphologiques et de qualité chez *Ch. quinoa* et *Ch. Berlandieri* subsp. *nutalliae*, dans 29 lignées récemment introduites en Inde.

Pour comprendre comment le type de variété (= différenciation génétique) et la capacité de variation d'un individu selon la variation de l'environnement (= plasticité phénotypique) peuvent interagir pour favoriser l'adaptation aux variations du climat chez la quinoa, il faut connaître la distribution de la variation génétique entre les différents niveaux d'organisation de l'espèce, c'est-à-dire entre les populations de plusieurs écorégions, entre les familles d'une population, et finalement, entre des individus dans les familles.

La théorie hiérarchique prédit qu'il n'y a pas un *continuum* dans les échelles d'organisation mais un certain nombre de niveaux distincts (Burel 1992). Il est donc nécessaire d'étudier conjointement différentes échelles pour identifier les niveaux hiérarchiques qui interviennent dans l'organisation de processus complexes (Urban *et al.* 1987). La complexité dans les systèmes écologiques provient de

l'interaction de plusieurs niveaux d'organisation. Les analyses multivariées offrent un ensemble d'outils puissants pour révéler les facteurs d'organisation à chaque niveau (Allen & Hoekstra 1990 cités par Burel 1992). Elles ont aussi été largement utilisées pour classer les variations quantitatives et qualitatives observées au sein d'espèces cultivées et examiner les relations existant entre génotypes (e.g. Bajracharya *et al.* 2006, Bhargava *et al.* 2006, Demey *et al.* 2003, Strelchenko *et al.* 1999). La caractérisation d'une collection d'individus appartenant à différentes populations consiste à enregistrer les caractéristiques qualitatives et quantitatives hautement héritées, qui peuvent être facilement observées, et qui s'expriment dans la plupart des environnements.

4.2 Objectifs

Analyser au moyen de marqueurs morphologiques et phénologiques, la structure de la variation phénotypique au sein de sept populations de quinoa de l'Altiplano bolivien, pour ensuite faire une comparaison avec la diversité de marqueurs moléculaires et la mettre en relation avec l'origine géographique des populations.

4.3 Synthèse bibliographique

4.3.1 Biodiversité et ressources génétiques

La biodiversité se réfère à la diversité et à la variabilité existante entre les organismes vivants au sein des écosystèmes, qu'il s'agisse de la diversité entre espèces ou de la variation génétique intra-spécifique et intra-population (Wood & Lenné 1999). Dans ce cadre, les ressources génétiques végétales sont particulièrement importantes pour les sociétés humaines parce qu'elles constituent la matière première de l'agriculture et sont une réserve de gènes pour l'obtention de nouvelles variétés. La biodiversité est le résultat d'un processus évolutif dans lequel la mutation et la sélection déterminent les caractéristiques et la quantité de diversité biologique qui existe en un lieu et à un moment donnés.

Les ressources génétiques végétales sont des ressources naturelles limitées qui fournissent la matière première d'où sont tirés certains gènes utilisés et combinés par les techniciens en amélioration génétique. Ces gènes sont dispersés dans les populations cultivées locales et dans des populations naturelles de plantes, sélectionnées au cours de milliers d'années par la nature et par les agriculteurs pour leurs facultés d'adaptation, de résistance et/ou de productivité.

Les hautes terres des pays andins ont été et sont l'habitat naturel de nombreuses espèces et cultivars natifs qui constituent le plus important centre de diversité génétique de la quinoa. Les ressources génétiques intègrent aussi, en plus des formes primitives, sauvages et cultivées, les matériaux conservés dans les banques de germoplasme (Bonifacio 1999).

4.3.2 Variabilité morphologique

Pour compléter le chapitre 2 (§ 2.2.2), on présente ici une brève description des traits morphologiques de la quinoa utilisés pour caractériser la variation phénotypique des populations étudiées. La quinoa est une plante qui atteint une hauteur de 0.2 à 3 m, ce caractère est important pour distinguer des

rares, notamment parce que celles provenant des vallées sont généralement plus grandes que celles de l'Altiplano (Gandarillas 1968). La tige principale peut être ramifiée ou non, selon l'écotype, la race, la densité de semis et les conditions de culture.

L'inflorescence est une panicule dont l'axe principal, plus développé, porte des axes secondaires, et dans quelques cas tertiaires. La panicule terminale peut être définie ou ramifiée. Dans le premier cas, elle est totalement différenciée du reste de la plante, et souvent de forme massive. Dans le second cas, il n'existe pas une différenciation claire parce que l'axe principal a des ramifications relativement longues qui donnent à la panicule une forme conique et effilée, parfois assez lâche, et souvent plus étroite que celles des panicules définies.

Le fruit est un akène indéhiscent qui contient un grain dont la taille varie de 1 à 2.5 mm de diamètre et de 0.4 à 0.8 mm d'épaisseur selon la variété. Généralement le classement de taille des grains se fait en trois catégories : ceux de grande taille (2.2 à 2.6 mm de diamètre), les grains moyens (1.8 à 2.2 mm) et les petits (inférieurs à 1.8 mm) (Bonifacio *et al.* 2001). L'indice de récolte (rapport du poids de graines au poids total de la partie aérienne) est un indicateur de l'investissement de la plante dans la partie reproductive et, par conséquent, un critère important de sélection par les agriculteurs. Sa valeur, qui dépend des cultivars et surtout des conditions de culture, se situe généralement autour de 0.40 et peut atteindre 0.70 en conditions favorables (Izquierdo *et al.* 2001, Herencia *et al.* 1999). L'indice de fertilité (rapport du poids de graines au poids total de la panicule) est un indicateur de l'efficacité de conversion de la biomasse reproductive en graines. Il traduit la réussite globale des étapes successives de formation du grain (initiation florale, fécondation, remplissage). À notre connaissance, aucune donnée concernant la quinoa n'est disponible dans la littérature.

La durée du cycle végétatif de la quinoa varie entre 90 jours pour les variétés les plus précoces, à 140 jours environ pour les variétés intermédiaires et 180 jours pour les plus tardives (Izquierdo *et al.* 2001, Herencia *et al.* 1999). Cette durée est en partie déterminée par la photopériode qui contrôle également la date de floraison chez de nombreux cultivars de jours courts (Bertero 2003, Bertero *et al.* 1999a, b). Herencia *et al.* (1999) signale que des quinoas andines précoces ont vu leur cycle végétatif allongé de 30 jours lorsqu'elles se trouvaient cultivées en Espagne (longs jours), alors que le cycle de quinoas intermédiaires ou tardives n'était pas affecté par le changement de latitude. La durée de la période reproductive (entre anthèse et maturité physiologique) varie entre 15 et 40 jours environ, la durée même de la floraison au sein d'une panicule allant de 12 à 15 jours (Izquierdo *et al.* 2001).

4.4 Matériels et Méthodes

4.4.1 Site d'étude

La caractérisation des 7 populations de quinoa a été réalisée, au cours des saisons agricoles 2004-2005 et 2005-2006, à l'École Technique Supérieure Agricole de Viacha appartenant à la Faculté d'Agronomie de l'Université Mayor de San Andrés (16° 39' latitude sud, 68° 18' longitude ouest, altitude 3830 m). Le climat de la zone présente les caractéristiques suivantes (moyennes annuelles) : une précipitation de 447 mm, une température moyenne de 9 °C, une température maximale de 16 °C, une température minimale de 3 °C, avec environ 172 jours de gel par an. La végétation prédominante

dans la zone est constituée de graminées natives, de cultures de quinoa et de pomme de terre pour l'autoconsommation, et d'orge pour le fourrage.

4.4.2 Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué par 7 populations de quinoa récoltées dans des parcelles d'agriculteurs lors des prospections effectuées dans l'Altiplano bolivien en 2002 et 2003 (Tableau 4-1).

Tableau 4-1 Localisation des sites d'échantillonnage pour l'étude de la variation phénotypique des populations de quinoa de l'Altiplano bolivien.

Population	Secteur écologique	Localité	Altitude (m)	Longitude O – Latitude S
njo	Nord (lac)	Pacharia	3909	68°52'60" – 15°53'03"
cig	Centre (plaine)	Park'o	4172	68°31'01" – 16°57'22"
cep	Centre (plaine)	Sivicani	3746	68°08'52" – 16°59'30"
cte	Centre (plaine)	Challapata	3770	66°45'15" – 18°50'15"
vse	Vallée interandine	Sepultura-Puna	3627	65°35'29" – 19°51'23"
sin	Sud (salar)	Karuta	3684	67°54'10" – 19°37'51"
sjl	Sud (salar)	Pachincha	3713	67°39'36" – 20°46'27"

Ces populations sont représentatives de la diversité des zones agro-écologiques de culture de quinoa, parmi l'Altiplano et les vallées inter andines. Lors de ces prospections, pour chaque population (parcelle paysanne), 10 plantes-mères avaient été collectées de manière à représenter la variabilité de taille des plantes et de couleur des panicules observable dans la parcelle. Dans l'essai en jardin commun, pour chacune des sept populations, les graines issues de 10 plantes-mères différentes ont été semées en pots séparés avec 10 répétitions par plante-mère. Ces 10 répétitions par plante-mère ont ainsi donné 10 « plantes-filles » d'une même famille (« *full sibling progenies* »), et il y avait 10 familles par population, soient 100 individus par population.

4.4.3 Conditions de culture

Le semis a été effectué à 2 cm de profondeur à raison de 5 graines par pot, le 7 novembre 2004 pour le premier essai et le 30 octobre 2005 pour le second. Une fois assurée l'installation des plantes (stade 2 feuilles vraies), les semis ont été éclaircis afin de ne maintenir qu'un seul individu par pot. Les pots de 11460 cm³, contenaient un mélange homogénéisé de tourbe et de terre franche (50/50 vol.). Ils étaient disposés avec une densité de 10 plantes/m² en plein air, sous un filet para-grêle (Figure 4-1 et Photo 4-1 a et b).

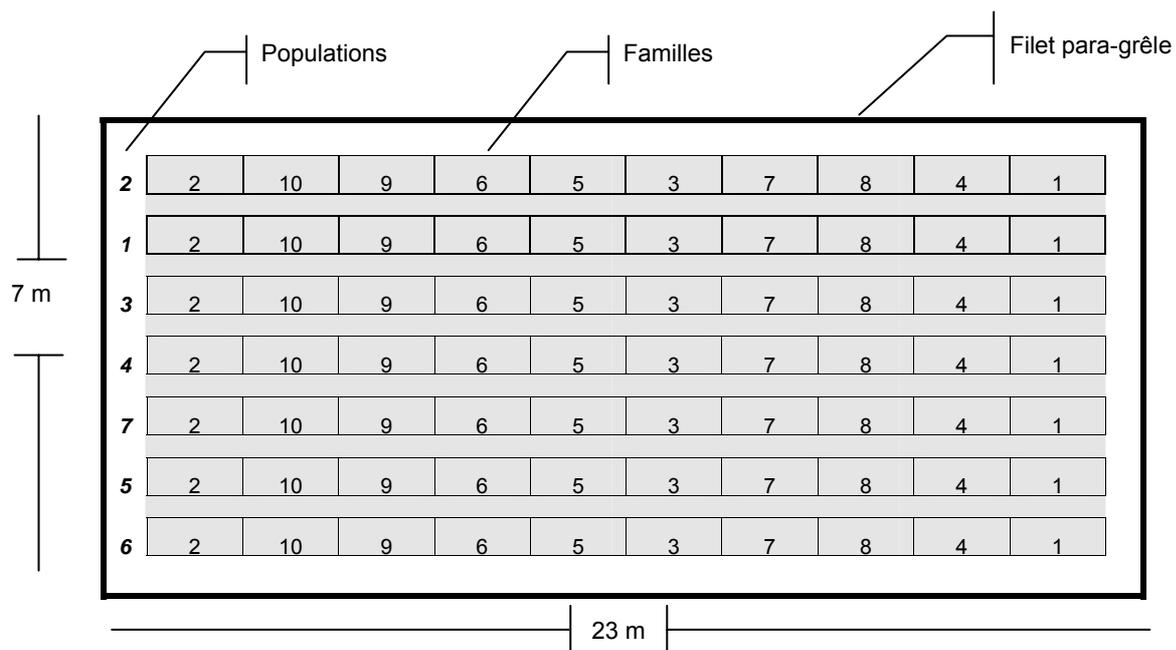


Figure 4-1 Schéma de la distribution des sept populations de quinoa au cours des deux cycles de culture.



Photo 4-1 Dispositif en jardin commun installé à Viacha en 2004-2005 et 2005-2006 : a) vue générale montrant le filet para-grêle, b) vue rapprochée d'une série de familles au stade post-floraison.

La température de l'air et les précipitations ont été enregistrées à la station expérimentale de Choquenaira distante de 2 km (Tableau 4-2). Des traitements préventifs contre le mildiou ont été appliqués. Aucun engrais minéral n'a été utilisé.

Tableau 4-2 Conditions climatiques des deux cycles de culture.

Cycle de culture	Température (°C)			Précipitations (mm)
	Minimale	Maximale	Moyenne	
2004 – 2005				
Novembre	3.4	19.2	11.3	33.5
Décembre	4.0	18.9	11.5	42.7
Janvier	4.9	16.1	10.5	107.1
Février	4.7	15.7	10.2	87.4
Mars	3.0	18.2	10.6	40.2
2005 – 2006				
Novembre	2.9	22.0	12.5	85.0
Décembre	3.4	24.8	14.1	67.2
Janvier	3.7	24.2	14.0	109.7
Février	2.5	24.8	13.7	128.7
Mars	3.5	24.5	14.0	80.0

4.4.4 Plan expérimental

Lors du premier essai (2004-2005), pour afin d'éviter d'éventuels effets de position, les pots ont été déplacés au hasard chaque semaine tant que les plantes étaient en phase active de croissance. Une fois les panicules émergées chez la majorité des plantes, et pour prévenir de possibles dommages lors du déplacement des plantes plus hautes, les pots ont été ordonnés définitivement suivant un dispositif de parcelles subdivisées (split-plot), chaque bloc étant constitué par une population, et chaque sous-bloc par une famille. Aucun effet de bord ni de localisation n'ayant été observé lors du premier essai, le dispositif en parcelles subdivisées a été donc adopté dès le début de la culture pour le second essai (2005-2006).

4.4.5 Données collectées

Pour la caractérisation phénotypique des 7 populations de quinoa, les caractères morpho-phénologiques suivants ont été évalués sur la base des descripteurs de quinoa publiés par le Conseil International des Ressources Phytogénétiques (IBPGR 1981) :

Traits morpho-phénologiques mesurés sur chaque individu :

JAS : émergence, évaluée en nombre de jours écoulés entre le semis et l'apparition des cotylédons

PP : poids de la panicule, après séchage à 65 °C pendant 72 h (g/plante)

PG : poids de grains, après séchage à 65 °C pendant 72 h (g/plante)

- PT : poids total de la partie aérienne, après séchage à 65 °C pendant 72 h (g/plante)
- HP : hauteur de la plante, de la base de la tige à l'extrémité de l'inflorescence le jour de la récolte (cm)
- DP : diamètre de la panicule, mesuré dans la partie médiane le jour de la récolte (cm)
- NR : nombre de ramifications primaires de la tige principale
- DEF : début de floraison = date d'éclosion de 50% des fleurs de la panicule (nombre de jours après semis)
- DUF : durée de floraison = durée écoulée entre DEF et l'éclosion de 80% des fleurs de la panicule (nombre de jours)
- MF : maturité physiologique = date à laquelle les graines ont pris une consistance farineuse (nombre de jours après semis)
- NG : nombre total de grains par plante, compté par analyse de photos numériques (logiciel SigmaScan Pro, version 5) sur le second essai seulement

Traits morpho-phénologiques calculés pour chaque individu :

IR : indice de récolte = PG/PT

IF : indice de fertilité = PG/PP

P100 : poids de 100 grains = $PG/NG * 100$ (grammes), sur le second essai seulement

4.4.6 Analyses statistiques

Les données obtenues des 700 plantes évaluées ont été d'abord soumises à une analyse statistique descriptive au niveau de la population ($n = 100$) : la moyenne, l'intervalle de variation, la déviation standard et le coefficient de variation ont servi à caractériser la tendance centrale et la dispersion de chacun des traits mesurés.

La recherche d'une structure au sein d'un ensemble d'individus peut s'effectuer par le calcul de paramètres de corrélation ou d'association, de mesures de distances ou de dissemblance et de paramètres de similitude ou de ressemblance. Ces paramètres sont ensuite utilisés dans les méthodes de classification d'individus isolés ou de groupes d'individus.

La structure de la variation phénotypique a été examinée successivement par: 1) l'analyse du degré d'association entre les différentes caractéristiques morpho-phénologiques, à travers le calcul des coefficients de corrélation de Pearson, 2) une analyse de variance hiérarchique ("*nested ANOVA*") séparant la variance observée en trois niveaux : entre populations, entre familles au sein des populations, à l'intérieur des familles, 3) une analyse en composantes principales (ACP) et, 4) une classification hiérarchique (dendrogramme) permettant de révéler les similitudes entre populations. Enfin, 5) une analyse canonique discriminante (ACD), a servi à tester la signification des groupes formés. Les méthodes d'analyse multivariées ont été utilisées pour confirmer les patrons de classification tant des populations que des individus en accord avec l'ensemble des caractéristiques évaluées. Cette classification avait pour objectif de reconnaître si les populations et les individus se différenciaient dans des groupes homogènes en accord avec leur origine, s'il existait une tendance à la différenciation d'un gradient continu ou s'il n'existait pas de différences.

Pour chacun des caractères mesurés une matrice de données a été élaborée, dans laquelle chaque caractère constituait une variable et chaque individu une unité d'observation. Ces matrices de données non standardisées ont été utilisées pour calculer les statistiques descriptives et faire l'analyse de variance hiérarchique. Pour les analyses multivariées (ACP, dendrogramme, ACD), des matrices de moyennes par famille ou par population ont également été créées. Dans le but de diminuer l'effet des différentes échelles et unités de mesure de chaque variable, ainsi que l'effet du type de variable (continue ou discrète), ces matrices construites avec les moyennes des individus par famille ou par population, ont été normalisées avec l'algorithme $Y' = (Y - a) / b$, où Y' est la valeur normalisée d'un caractère morpho-phénologique, Y est la valeur réelle de ce caractère (moyenne par famille ou population), a est sa valeur moyenne générale et b est sa déviation standard (Crisci & Lopez 1983).

L'ensemble de ces analyses a été réalisé au moyen des programmes SAS System version 8 (SAS 1999), Statistica version 6.0 (StatSoft 2002) et Excel Stat.

a) Analyse de variance hiérarchique

Pour l'analyse de la structure de la variation phénotypique, on a considéré un modèle d'ANOVA hiérarchique à effets purement aléatoires (Modèle II), dans lequel les 7 populations testées représentaient un échantillon aléatoire des populations présentes sur la zone d'étude et, pareillement, les plantes-mères collectées constituaient un échantillon aléatoire des individus présents dans chaque population. Elle a été réalisée par la procédure VARCOMP de SAS (1999) avec le modèle statistique suivant :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta(\alpha)_{j(i)} + \varepsilon_{k(ij)}$$

- Y_{ijk} = une observation
- μ = moyenne générale
- α_i = effet de la i-ème Population
- $\beta(\alpha)_{j(i)}$ = effet emboîté de la j-ème Famille dans la i-ème Population
- $\varepsilon_{k(ij)}$ = effet aléatoire des résidus

Avec un modèle à effets aléatoires, la structure de l'analyse de variance pour la décomposition de la variation phénotypique est celle présentée dans le Tableau 4-3 :

Tableau 4-3 Analyse de variance hiérarchique à 2 niveaux.

FV	DDL	SC	CM	Variance attendue
Entre populations	a – 1	SCPop	CMPop	$\sigma_e^2 + n \sigma_{fam}^2 + nb\sigma_{pop}^2$
Familles au sein des populations	a(b-1)	SCFam(Pop)	CMFam(Pop)	$\sigma_e^2 + n \sigma_{fam}^2$
Résidus	ab(n-1)	ScRésidus	CMRésidus	σ_e^2
Total	abn-1			

DDL: Degrés de liberté, SC: Somme des carrés, CM Carré moyen calculé.

Pour chacune des populations isolément, le même modèle d'ANOVA hiérarchique a ensuite permis de subdiviser la variation intra-population en variance inter-familles et variance intra-familles. La proportion de variance intra-population relevant de la différenciation inter-familles est équivalente au coefficient de corrélation intra-classe. Dans le cas des espèces préférentiellement autogames comme la quinoa, ce coefficient donne une estimation grossière de l'héritabilité du trait considéré, estimation qui inclut les effets maternels dans le cas d'une analyse de fratrie ("*full sibling design*") comme la nôtre (Rice & Mack 1991).

Le test de Levene a été utilisé pour comparer la variabilité intra-familles entre familles d'une même population. Si le test de Levene est statistiquement significatif (i.e. $P < 0.05$), l'hypothèse d'homogénéité des variances intra-familles au sein de la population doit être rejetée. Ce test est robuste quand les effectifs des groupes à comparer sont égaux, ce qui est le cas de notre étude.

b) Classification hiérarchique

Pour cette analyse on a calculé la distance entre les individus et entre les populations par le coefficient de dissimilitude basé sur la distance euclidienne, puis regroupé les individus par la méthode de la moyenne non pondérée (UPGMA = Unweighted Pair Groups Method of Analysis) (Palm 1996).

c) Analyse en composantes principales

À partir de la matrice de données standardisées, une matrice de corrélation a été calculée entre variables et on a obtenu les vecteurs propres permettant d'identifier les caractères les plus importants pour la différenciation morphologique dans chacune des composantes principales. Les individus et les populations ont ensuite été projetés dans l'espace des deux premières composantes principales.

d) Analyse de fonctions discriminantes

Comme dans le cas de l'analyse de composantes principales, les analyses de fonctions discriminantes ont été effectuées à partir de la matrice standardisée pour identifier les caractères les plus importants dérivés des variables canoniques.

4.5 Résultats

4.5.1 Statistiques descriptives des traits morpho-phénologiques

La moyenne, l'intervalle et le coefficient de variation des différents traits observés lors des deux années d'essai sont présentés dans le tableau 4-4. Des variations importantes sont apparues pour tous les traits considérés, ainsi qu'entre les deux saisons d'expérimentation. D'une façon générale, les traits liés à la production de biomasse étaient nettement plus variables que ceux liés au développement phénologique des plantes : les coefficients de variation du poids des différents organes ou du nombre de grains étaient voisins de ou supérieurs à 60%, tandis que ceux des dates de floraison ou de maturité restaient inférieurs à 20%. Les caractéristiques morphologiques des plantes (hauteur, diamètre de la panicule, nombre de ramifications, indices IR et IF, poids de 100

grains) présentait des niveaux intermédiaires de variabilité, entre 20 et 30%. La durée de floraison (DUF) est le seul trait du développement des plantes avec une forte variabilité, peut-être due au fait qu'il s'agit d'un trait calculé combinant la variabilité de deux autres séries d'observations (floraisons des panicules à 50 et 80%).

Si, à l'exception des durées d'émergence et de floraison, les niveaux de variation sont très comparables entre années, en revanche les valeurs moyennes et les maxima révèlent que le 1^{er} essai a été plus favorable à la production de biomasse que le second avec, par exemple, un poids total moyen par plante de 19,05 g en année 1 contre 9,71 g en année 2. Cet écart de pratiquement 50% dans la production de matière sèche ne s'est pas accompagné de différences notables dans le développement des plantes, ni dans leur morphologie d'ensemble : elles ont fleuri et sont parvenues à maturité pratiquement aux mêmes dates, avec une hauteur totale, un nombre de ramifications, des indices de récolte et de fertilité très similaires. Seules les panicules de l'année 1, mieux remplies, ont augmenté leur diamètre. Cette différence de production de biomasse entre les deux années pourrait être due à la forte pluviométrie de l'année 2 (Tableau 4-2) qui aurait entraîné d'une part une asphyxie des racines et de l'autre une lixiviation des nutriments du substrat contenu dans les pots.

Tableau 4-4 Statistiques de tendance centrale et de dispersion des traits morphophénologiques observés dans les deux saisons étudiées (n = 700, A1 = 2004-2005, A2 = 2005-2006).

Caractéristiques	Intervalle de variation				Moyenne		SD		CV (%)	
	Minimum		Maximum							
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
Émergence (JAS)	5	5	10	15	7.21	8.54	1.39	3.77	19.26	44.11
Début de floraison (DEF)	62	58	108	119	76.81	76.91	8.15	12.99	10.62	16.89
Durée de floraison (jours) (DUF)	3	5	24	19	8.36	11.81	4.43	3.36	52.99	28.48
Maturité physiologique (MF)	137	132	180	174	151.04	150.46	11.27	13.21	7.46	8.78
Nombre de ramifications (NR)	8	10	41	36	22.62	22.49	5.46	4.16	24.15	18.48
Diamètre de la panicule (cm) (DP)	2.03	1.27	7.44	6.31	4.27	2.91	1.11	0.64	26.00	21.91
Hauteur de la plante (cm) (HP)	32	33	141	123	74.57	62.32	21.22	15.69	28.45	25.17
Poids de tige (g/plante) (PTig)	0.74	0.54	21.99	13.77	4.43	2.36	3.40	1.55	76.83	65.39
Poids de feuilles (g/plante) (PF)	0.15	0.11	14.23	7.67	2.57	1.20	2.12	0.95	82.60	78.80
Poids de la panicule (g/plante) (PP)	2.79	1.43	48.44	41.32	12.05	6.15	7.13	4.13	59.19	67.12
Poids de grains (g/plante) (PG)	2.29	0.87	36.94	31.64	8.81	4.41	5.22	3.02	59.29	68.37
Poids total de la plante (g) (PT)	4.27	2.43	80.62	62.76	19.05	9.71	12.17	6.33	63.90	65.14
Indice de récolte (IR)	0.09	0.11	0.67	0.61	0.48	0.46	0.07	0.08	15.03	18.53
Indice de fertilité (IF)	0.22	0.28	0.88	0.89	0.74	0.72	0.07	0.08	9.82	12.09
Nombre de grains par plante (NG)		106		3985		1322		797.36		60.32
Poids de 100 grains (g) (P100)		0.05		1.13		0.35		0.11		31.03

JAS = Jours Après Semis, SD = Écart-type, CV = Coefficient de variation

4.5.2 Analyses de corrélation entre traits morpho-phénologiques

Les coefficients de corrélation entre les différents traits observés chaque année sont présentés dans les Tableaux 4-5 et 4-6. La plupart des traits liés à la vigueur des plantes (production de biomasse, hauteur, nombre de ramifications, diamètre de la panicule) ont une corrélation positive avec la production finale de graines. En revanche, celle-ci reste indépendante des indices de récolte et de fertilité, comme de la date et de la durée de la floraison. En année 1, la production de graines était aussi en relation positive avec la date de maturité physiologique, et donc avec la durée totale du cycle. Cette relation était plus marginale ($P = 0.05$) en année 2.

Tableau 4-5 Coefficients de corrélation entre traits morpho-phénologiques observés en 2004-2005 (n = 700, les coefficients en gras ou en italiques sont significatifs à $P = 0.01$ et $P = 0.05$ respectivement).

Traits	PP	PG	HP	DP	NR	PT	IR	IF	DEF	DUF	MF	JAS
PP	1											
PG	0.984	1										
HP	0.783	0.746	1									
DP	0.695	0.658	0.884	1								
NR	0.568	0.519	0.750	0.677	1							
PT	0.985	0.962	0.821	0.718	0.601	1						
IR	<i>-0.293</i>	<i>-0.162</i>	<i>-0.547</i>	<i>-0.461</i>	<i>-0.544</i>	-0.398	1					
IF	<i>-0.170</i>	<i>-0.008</i>	<i>-0.341</i>	<i>-0.311</i>	-0.408	<i>-0.211</i>	0.843	1				
DEF	0.186	0.123	0.265	0.255	0.426	0.201	-0.368	-0.363	1			
DUF	0.130	0.118	0.021	-0.008	0.125	0.089	0.032	-0.069	0.235	1		
MF	0.464	0.383	0.608	0.569	0.709	0.480	-0.557	-0.549	0.637	0.367	1	
JAS	<i>-0.127</i>	<i>-0.134</i>	<i>-0.097</i>	<i>-0.078</i>	<i>-0.081</i>	<i>-0.144</i>	0.077	-0.037	-0.227	-0.034	-0.020	1

Tableau 4-6 Coefficients de corrélation entre traits morpho-phénologiques observés en 2005-2006 (n = 700, les coefficients en gras ou en italiques sont significatifs à $P = 0.01$ et $P = 0.05$ respectivement).

Traits	PP	PG	HP	DP	NR	PT	IR	IF	NG	P100	DEF	DUF	MF	JAS
PP	1													
PG	0.982	1												
HP	0.718	0.651	1											
DP	0.742	0.708	0.612	1										
NR	0.457	0.399	0.723	0.544	1									
PT	0.988	0.955	0.769	0.766	0.521	1								
IR	0.061	0.202	<i>-0.355</i>	<i>-0.125</i>	-0.424	<i>-0.062</i>	1							
IF	<i>-0.011</i>	0.150	<i>0.351</i>	<i>-0.115</i>	<i>-0.352</i>	<i>-0.097</i>	0.895	1						
NG	0.781	0.766	0.698	0.521	0.371	0.757	0.109	0.002	1					
P100	0.205	0.255	<i>-0.163</i>	0.245	<i>-0.042</i>	0.190	<i>0.282</i>	0.364	<i>-0.276</i>	1				
DEF	0.076	0.027	0.380	<i>0.283</i>	0.575	0.146	-0.521	-0.390	0.082	<i>-0.196</i>	1			
DUF	<i>-0.037</i>	<i>-0.012</i>	<i>-0.119</i>	<i>-0.220</i>	<i>-0.284</i>	<i>-0.088</i>	<i>0.272</i>	0.127	0.107	<i>-0.161</i>	-0.472	1		
MF	0.360	<i>0.275</i>	0.716	0.388	0.658	0.422	-0.549	-0.516	0.435	-0.345	0.651	<i>-0.235</i>	1	
JAS	<i>-0.029</i>	<i>-0.032</i>	<i>-0.014</i>	0.022	0.057	<i>-0.025</i>	<i>-0.042</i>	<i>-0.035</i>	<i>-0.038</i>	0.006	<i>-0.105</i>	<i>-0.065</i>	0.083	1

La date de maturité physiologique (MF) avait une relation significative avec la plupart des autres traits, relation positive sauf avec IR, IF et P100. Les corrélations positives les plus fortes pour MF étaient avec le nombre de ramifications NR et la date de floraison DEF, ce qui souligne le lien entre une maturité tardive de la panicule principale et la capacité prolongée d'émettre des ramifications. Les corrélations négatives de MF ou DEF avec les indices de récolte et de fertilité suggèrent que l'excédent de capacité productive offert par un cycle long a été investi en croissance végétative tardive (développement de ramifications restées stériles), aboutissant à une diminution des indices IR et IF. Dans nos conditions expérimentales, c'est-à-dire en absence de stress physiologique sévère, ces observations suggèrent donc une limitation de la production de graines par les puits (nombre de fleurs fertiles) plutôt que par les sources (capacité de production d'assimilats).

4.5.3 Structure de la variation phénotypique

L'importance relative des composantes inter-populations, inter-familles et intra-familles de la variance phénotypique était différente selon le trait considéré, et a montré un patron similaire entre les 2 années (Figure 4-2).

La variation des traits proprement morphologiques (HP, NR, DP, P100) et celles des traits liés au développement (DEF, MF) était dominée par la composante inter-populations, le reste de leur variation se répartissant de façon pratiquement égale entre familles au sein des populations et entre individus au sein des familles (sauf pour DEF, pour laquelle la variation inter-individuelle était très faible). Les dates de début de floraison et de maturité physiologique étaient les traits les plus fortement marqués au niveau des populations.

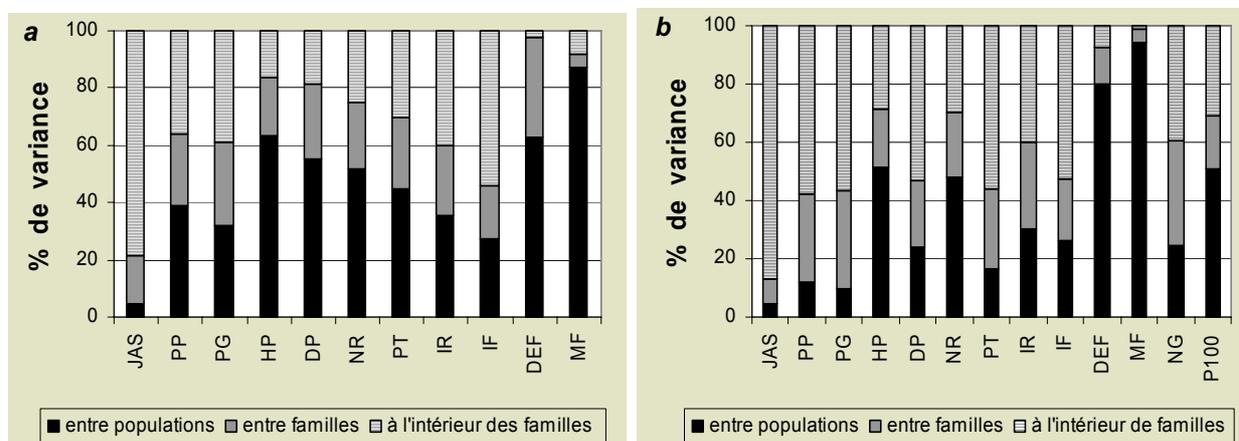


Figure 4-2 Répartition de la variance phénotypique au sein de sept populations de *Ch. quinoa* pour a) 11 traits morpho-phénologiques observés en Année 1 (2004-2005) et b) 13 traits morpho-phénologiques observés en Année 2 (2005-2006).

En revanche, la composante intra-familles (inter-individuelle) était plus importante que les deux autres pour les traits liés à la production de biomasse (PP, PG, PT, NG) ainsi que les indices de récolte et de fertilité (IR, IF). Elle est même devenue dominante en Année 2, lorsque les conditions environnementales étaient moins favorables à la croissance des plantes.

Deux groupes de traits morpho-phénologiques semblent donc se distinguer :

- ceux liés à la morphologie et la phénologie des plantes (hauteur, ramification, taille des grains, floraison, maturité) : ils sont avant tout caractéristiques des populations elles-mêmes, ce qui justifie leur utilisation pour la classification des écotypes et variétés ;

- ceux liés à la production et à l'allocation de biomasse (poids des différents organes et indices dérivés) : ils sont beaucoup plus dépendants du niveau individuel et liés aux performances physiologiques réalisées dans les conditions particulières du cycle de culture. Ce patron semble d'ailleurs se renforcer quand ces conditions de milieu deviennent moins favorables, comme le suggère l'augmentation de la variance intra-familles en Année 2.

La variable JAS présente un cas particulier où la variation inter-individuelle dominait très nettement. Ce qui s'explique vraisemblablement par le fait qu'elle décrit un phénomène, l'émergence, dont les aspects biologiques (germination puis croissance des axes embryonnaires) sont largement affectés par les conditions micro-locales de semis (profondeur, compaction, structure, température et humidité du sol au voisinage immédiat des semences). Il ne s'agit donc pas à proprement parler d'un "trait" morpho-phénologique des individus ou des populations, mais plutôt d'un processus complexe et rapide étroitement lié au milieu local.

4.5.4 Variation inter-populations

Des différences statistiques significatives existaient entre les 7 populations de quinoa pour tous les traits observés et pour chacune des 2 années (Tableau 4-7a et b).

La date de maturité physiologique (MF) montre que les quinoas originaires du sud de l'altiplano (*sin*, *sjl*, *cte*) étaient les plus précoces, tandis que celle provenant de la vallée inter-andine (*vse*) était la plus tardive, l'écart maximum entre les deux groupes atteignant 30 jours en 2005 et 36 jours en 2006. Les populations du centre et du nord (*njo*, *cig*, *cep*) avaient des durées de cycle intermédiaires. Ce trait était relativement stable entre les deux années, l'écart le plus grand étant apparu pour la population *njo* dont la maturité physiologique a tardé 9 jours de plus en 2006.

La date de début de floraison (DEF) a montré des écarts entre populations similaires à ceux de la variable MF (22 jours au maximum en 2005, 36 jours en 2006) avec, globalement, le même classement de précocité en fonction de l'origine géographique des populations.

La production de biomasse (PT, PG) a révélé deux groupes de populations : les écotypes *njo*, *cep* et *vse* avaient les valeurs les plus élevées, et *cte*, *cig*, *sjl* et *sin* les valeurs les plus basses. Ces quatre écotypes moins productifs étaient aussi ceux dont les performances ont été les plus stables entre les deux années : en moyenne leur perte de production de biomasse en Année 2 a été de 39% (41% pour la production de grains) alors que celle des trois écotypes les plus productifs s'élevait à 54% (56% en grains).

Les variables poids et diamètre de panicule (PP, DP), nombre de ramifications (NR) et hauteur des plantes (HP) ont différencié ces mêmes deux groupes: *njo*, *cep* et *vse* d'une part, *cte*, *cig*, *sjl* et *sin* d'autre part, avec une supériorité du premier groupe marquée l'Année 1 et, en conséquence, une stabilité plus grande des traits morphologiques pour les populations du second groupe. Ces dernières,

bien que collectées dans des sites éloignés par la distance, ont en commun de provenir de milieux écologiquement difficiles pour l'agriculture : arides et froids pour *sin*, *sjl* et *cte*, très élevés et froids pour *cig*.

Tableau 4-7a Comparaison des moyennes des populations par le test de rang multiple de Tukey à 5% (Année 2004-2005).

VARIABLE	POPULATION						
	<i>njo</i>	<i>cig</i>	<i>cep</i>	<i>cte</i>	<i>sin</i>	<i>sjl</i>	<i>vse</i>
JAS (j)	7.19 b	8 a	6.9 b	6.8 b	7.2 b	7.25 b	7.1 b
PP (g/pl)	20.1 a	8.4 c	15.9 b	8.8 c	8.9 c	7.1 d	15.2 b
PG (g/pl)	14.4 a	6.1 cd	11.7 b	6.8 cd	6.8 c	5.6 d	10.3 b
HP (cm)	100.5 a	73.4 d	91.4 b	61.6 e	59 e	50.6 f	85.5 c
DP (cm)	5.2 a	4.3 c	5.4 a	3.4 d	3.6 d	3.1 e	4.8 b
NR (nb/pl)	27.3 ab	22 c	26.2 b	19.8 d	17.3 e	18.2 e	27.5 a
PT (g/pl)	34.6 a	12.5 c	25.4 b	13.2 c	13.2 c	10.4 d	23.9 b
IR (%)	40.9 f	48.5 c	46.5 d	51.3 b	52.2 b	53.8 a	43.2 e
IF (%)	70.3 d	72.4 cd	73.9 c	76.9 b	77.2 b	79.3 a	67.2 e
DEF (j)	75.3 c	70.7 f	76.5 b	73.7 e	74.2 e	74.7 d	92.5 a
MF (j)	158 b	150.8 d	154.5 c	141.1 e	140.8 e	140.4 e	170.8 a

Les moyennes suivies de la même lettre dans une ligne donnée ne diffèrent pas au seuil de 5%.

Tableau 4-7b Comparaison des moyennes des populations par le test de rang multiple de Tukey à 5% (Année 2005-2006).

Variable	POPULATION						
	<i>njo</i>	<i>cig</i>	<i>cep</i>	<i>cte</i>	<i>sin</i>	<i>sjl</i>	<i>vse</i>
JAS (j)	7.7 bc	7.9 bc	8.9 ab	8.1 bc	9.8 a	7.5 c	10 a
PP (g/pl)	8.9 a	5.3 b	8.1 a	4.3 c	5.8 b	4.4 c	6.3 b
PG (g/pl)	6.0 a	3.8 c	5.8 a	3.3 c	4.4 b	3.3 c	4.2 bc
HP (cm)	80.2 a	59.7 c	68.9 c	49.1 e	58.5 c	46.5 f	73.4 b
DP (cm)	3.4 a	2.3 e	3 bc	2.6 d	3 bc	2.8 c	3.2 b
NR (nb/pl)	27.4 b	18.7 e	24.1 c	20.9 d	21.3 d	19.6 e	27.4 a
PT (g/pl)	14.5 a	7.9 c	12.6 a	6.6 d	9.2 b	6.5 d	10.8 b
IR (%)	40 c	48 b	46.6 b	50.3 a	47.8 b	50.9 a	36.8 d
IF (%)	65.9 c	71.1 b	72.3 b	77.5 a	75.3 a	75.9 a	64.4 c
DEF (j)	78.5 b	67.9 d	68.2 d	70.7 c	78.1 b	71.2 c	103.9 a
MF (j)	167.7 b	147 d	151.1 c	139.2 f	144 e	133.8 g	170.4 a
NG (nb/pl)	1879 a	1850 a	1431 b	769 d	1062 c	790 d	1473 b
P100 (g)	0.31 c	0.2 e	0.4 b	0.43 a	0.41 ab	0.39 b	0.28 d

Les moyennes suivies de la même lettre dans une ligne donnée ne diffèrent pas au seuil de 5%.

Enfin, les indices IR et IF ont montré des différences inter-populations significatives et stables entre les deux années : *sjl*, *sin* et *cte* ayant systématiquement les moyennes les plus élevées pour ces indices, et *njo* et *vse* les moyennes les plus faibles. Les populations les plus productives en biomasse (*njo*, *vse*) se retrouvaient donc avec les indices de récolte et de fertilité les plus bas suggérant, comme l'a déjà fait l'analyse des corrélations, une limitation de la production de grains par les puits plutôt que par la source. La stabilité inter-annuelle des indices IR et IF traduit la constance du rapport entre la biomasse totale et la production de graines, malgré les fluctuations possibles de la production totale. Ces deux traits pourraient donc être caractéristiques des populations, mais seuls des essais de comportement des écotypes face à des stress environnementaux marqués permettraient de conclure.

La variabilité des traits au sein des populations, mesurée de façon globale par les coefficients de variation, a également permis de caractériser les populations et de différencier certains groupes de traits (Tableau 4-8 a et b). Les traits phénologiques (MF, DEF) et les indices IF et IR étaient systématiquement les moins variables (CV généralement inférieurs à 10%). La biomasse et ses composantes montraient des CV élevés allant de 40 à 80%, et les variables HP, NR et P100 des CV intermédiaires compris entre 10 et 23%. Considérant l'ensemble des traits observés, les populations *cig* et *sjl* ont présenté la variabilité la plus faible, alors que *njo* avait des coefficients de variation généralement élevés. Pour *vse*, la variabilité faible l'Année 1 est devenue très forte l'Année 2. D'une façon générale, les coefficients de variation ont sensiblement augmenté pour toutes les populations la deuxième année.

Tableau 4-8a Coefficients de variation (%) des traits mesurés dans les sept populations (Année 2004-2005).

VARIABLE	POPULATION						
	<i>njo</i>	<i>cig</i>	<i>cep</i>	<i>cte</i>	<i>sin</i>	<i>sjl</i>	<i>vse</i>
JAS	15.4	21.6	17.1	21.8	17.8	16.1	19.2
PP	45.8	32.9	41.8	44.3	54.5	37.4	33.8
PG	50.1	33.7	43.2	45.2	55.2	38.1	37.0
HP	15.8	12.7	19.9	16.4	20.9	17.3	11.5
DP	16.3	11.3	21.6	14.0	17.2	16.5	13.8
NR	14.5	12.9	12.2	23.1	19.5	23.6	12.2
PT	44.8	32.0	43.6	44.8	56.1	36.0	32.8
IR	15.3	10.26	10.6	8.00	11.7	9.6	17.8
IF	11.4	7.1	6.9	4.2	9.5	6.3	11.2
DEF	4.7	4.8	5.5	5.1	5.7	4.1	9.4
MF	0.0	0.3	2.5	2.7	3.4	4.5	2.3

Tableau 4-8b Coefficients de variation (%) des traits mesurés dans les sept populations (Année 2005-2006).

VARIABLE	POPULATIONS						
	<i>njo</i>	<i>cig</i>	<i>cep</i>	<i>cte</i>	<i>sin</i>	<i>sjl</i>	<i>vse</i>
JAS	47.3	47.1	41.1	45.8	39.3	44.3	38.8
PP	63.9	42.6	60.8	46.2	47.3	62.9	72.0
PG	71.0	41.8	61.8	46.6	50.3	64.8	80.4
HP	18.1	12.3	16.0	14.8	18.1	18.7	18.0
DP	18.5	21.3	20.4	13.5	16.7	13.8	23.5
NR	14.4	13.4	10.6	10.8	15.5	13.0	12.5
PT	58.6	44.0	59.6	45.4	44.4	62.4	61.6
IR	20.3	10.7	14.5	8.8	16.0	12.0	25.1
IF	12.8	6.6	8.9	4.5	10.3	9.2	17.1
DEF	8.7	6.5	5.8	6.7	8.0	6.1	7.3
MF	2.5	1.4	0.0	2.4	0.0	2.6	2.6
NG	54.7	36.6	44.1	41.7	40.8	33.5	65.3
P100	19.3	13.1	22.3	14.3	17.2	15.3	42.1

4.5.5 Variation inter-familles

La quinoa étant préférentiellement autogame, et nos essais ayant été réalisés sans pré-conditionnement des populations testées (ce qui aurait demandé un cycle de culture antérieur avec récolte des graines dans la station expérimentale et resemis dans la même station), les effets maternels ont vraisemblablement contribué à augmenter la variance inter-familles. Celle-ci dépendait à la fois de l'année, de la population, et du trait considérés (Figures 4-3 a et b).

D'une façon générale, la variabilité inter-familles surpassait la variabilité intra-familles pour l'ensemble des populations, ce qui suggère une héritabilité élevée de la plupart des traits concernés. Cependant, en Année 2 c'est la variabilité intra-familles qui a dominé la plupart des traits étudiés dans les populations *cep*, *cte*, *sin* et *sjl* : l'héritabilité des traits morpho-phénologiques serait donc moins forte dans ces quatre populations que dans les trois autres (*njo*, *cig* et *vse*).

Pour une population donnée, la variabilité inter-familles dépendait largement du trait considéré. Néanmoins, deux groupes de variables peuvent être distingués :

- pour JAS, MF, IR et IF, la proportion de variance inter-familles a varié considérablement entre populations et années. Pour JAS par exemple, cette proportion est passée de 12% pour *njo* à 80% pour *cig* en Année 1 et, pour cette même population *cig* de 80% en Année 1 à 23% en Année 2 ;
- les autres traits présentaient généralement une variation inter-familles supérieure à 50% (à l'exception, déjà signalée, des populations *cep*, *cte*, *sin* et *sjl* en Année 2), et même proche de 100% dans le cas de la date de début de floraison (DEF).

Ce résultat corrobore en grande partie l'analyse globale de la structure de la variation phénotypique (§ 4.4.3) où DEF ressortait comme une caractéristique stable (héritable) des populations, au contraire de JAS, IR et IF.

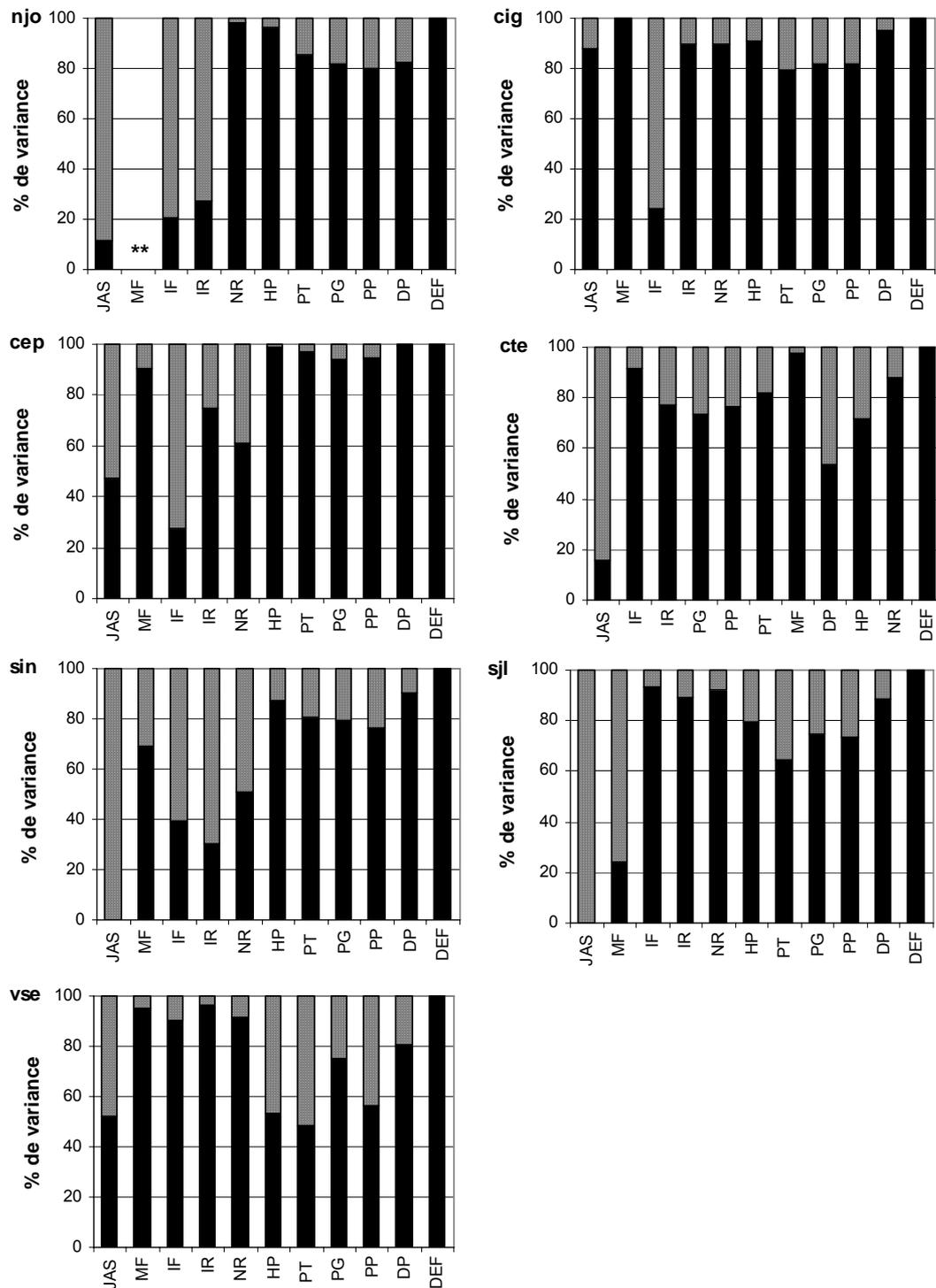


Figure 4-3a Répartition de la variance phénotypique inter-familles (noir) et intra-familles (grisé) pour 11 traits morpho-phénologiques observés en Année 1 (2004-2005) au sein de sept populations de *Ch. quinoa* (** : trait sans variation au sein de la population *njo*).

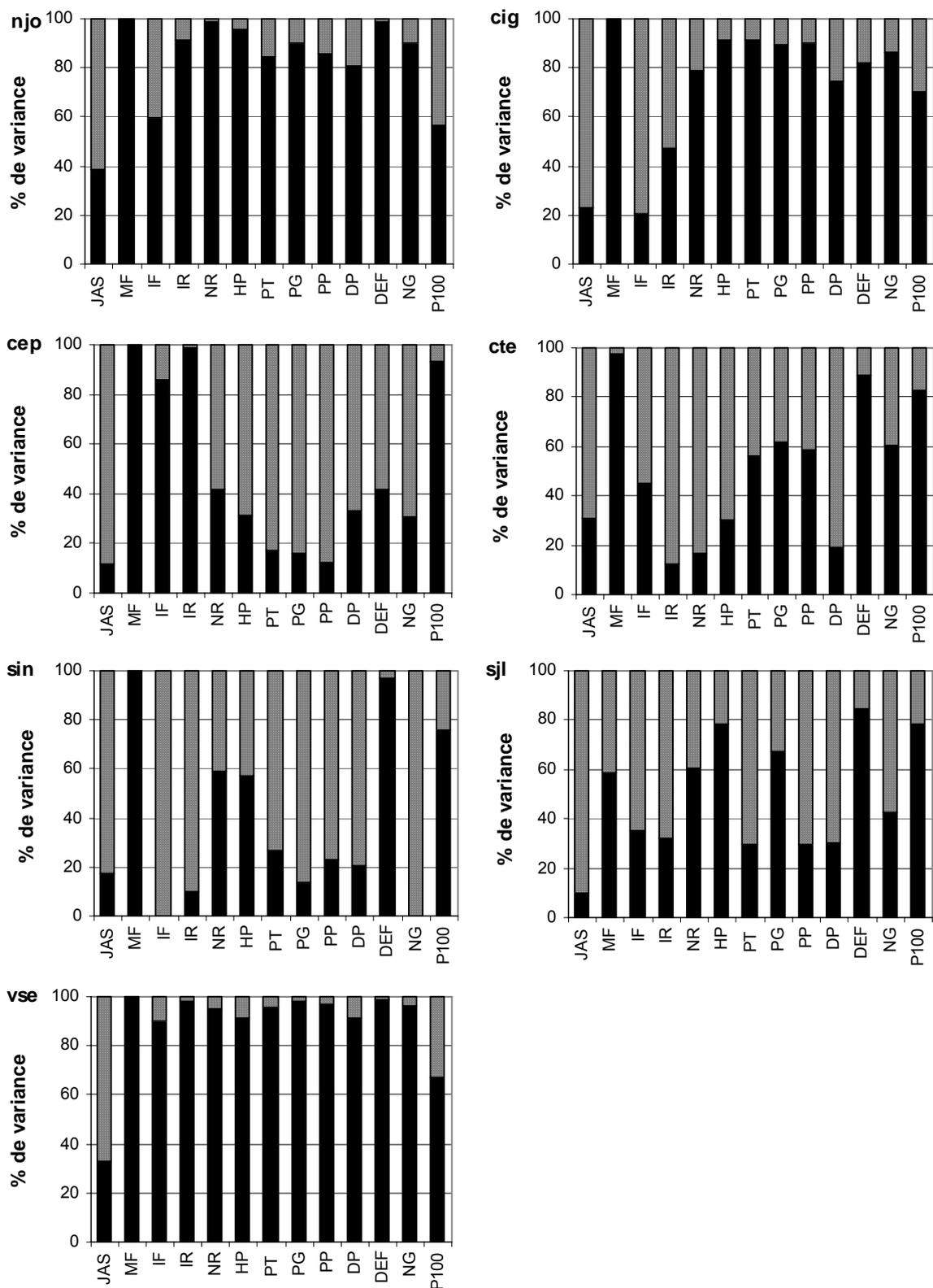


Figure 4-3b Répartition de la variance phénotypique inter-familles (noir) et intra-familles (grisé) pour 13 traits morpho-phénologiques observés en Année 2 (2005-2006) au sein de sept populations de *Ch. quinoa*.

4.5.6 Variation intra-familles

Les analyses précédentes ont montré qu'une grande partie de la variation des traits liés à la production de biomasse (PP, PG, PF, PT, NG) ou aux indices de récolte et de fertilité (IR, IF) se situait au niveau des intra-familles. Le test d'homogénéité des variances de Levene montre que le fait que les familles d'une même population soient également variables ou non dépendait des traits et des années (Tableau 4-9).

Tableau 4-9 Test de Levene d'homogénéité de la variance intra-famille entre familles des 7 populations de quinoa. Les valeurs sont les probabilités que les variances intra-famille soient homogènes au sein de chaque population (les valeurs non significatives ($P > 0.05$) ne sont pas reportées).

Populations							
Année 1	<i>njo</i>	<i>cig</i>	<i>cep</i>	<i>sin</i>	<i>vse</i>	<i>sjl</i>	<i>cte</i>
EM	-	-	0.001	-	0.025	0.038	0.005
PP	0.001	-	0.005	0.05	0.046	-	0.001
PG	0.002	-	0.006	0.03	0.039	-	0.001
HP	0.005	0.003	0.001	-	-	-	0.005
DP	0.001	0.002	0.018	-	0.001	-	0.001
NR	-	0.027	0.019	-	-	0.001	0.001
PT	0.004	-	0.001	-	-	0.043	0.001
IR	0.001	-	0.025	0.028	0.001	0.007	0.007
IF	0.002	0.008	0.002	0.002	0.001	0.001	-
DEF	-	-	0.001	-	0.027	0.029	0.004
MF	-	-	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Année 2	<i>njo</i>	<i>cig</i>	<i>cep</i>	<i>sin</i>	<i>vse</i>	<i>sjl</i>	<i>cte</i>
EM	0.042	0.001	0.001	0.001	0.001	-	0.001
PP	-	-	0.001	-	0.018	0.008	0.035
PG	-	-	0.001	-	-	0.036	0.045
HP	-	-	0.001	-	-	-	-
DP	-	0.009	0.003	0.010	0.024	-	-
NR	-	-	0.014	0.015	-	0.017	-
PT	-	-	0.001	-	-	0.003	-
IR	0.017	0.001	0.001	0.030	0.001	0.001	0.021
IF	0.002	0.001	0.001	-	0.001	0.001	-
DEF	0.041	0.001	0.001	0.001	0.001	-	0.001
MF	-	-	-	-	-	0.001	0.001
NG	-	-	0.013	-	-	-	-
P100	0.002	-	-	0.013	0.001	-	-

On distingue dans la population *cep* au cours deux années et pour la plupart des traits (sauf P100 et MF), que la variance intra-familles différait significativement parmi les 10 familles. Un patron similaire a été observés pour la population *cte* au cours de l'Année 1, et moins nettement l'Année 2. Au contraire, les populations *cig* et *sin* ont montré des variances homogènes dans leurs 10 familles respectives pour la majorité des traits.

Indépendamment des populations considérées, les variances intra-familles avaient tendance à être plus homogènes au cours de l'Année 2 particulièrement pour HP, PT, MF et NG. Ces traits liés à la production finale de biomasse (hauteur de plante, poids total, date de maturité physiologique, nombre de graines) seraient donc plus homogènes au sein des familles quand les conditions de culture sont moins favorables (voir p. 9, effet des précipitations élevées en 2005-2006).

4.5.7 Analyse en composantes principales et classification hiérarchique

Les analyses effectuées séparément sur les données des deux années d'études ayant donné des résultats comparables, une analyse synthétique basée sur les moyennes des variables observées en 2004-2005 et 2005-2007 au sein de chaque famille est présentée. Les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales des deux années représentent respectivement 53 et 16% de la variance totale (Tableau 4-10).

Tableau 4-10 Statistiques descriptives et corrélations des différents traits morpho-phénologiques avec les deux premiers axes (CP1 et CP2) de l'analyse en composantes principales conjointe des deux années (n = 1400).

Variable	Moyenne	ET	Mini	Maxi	Erreur-type	CV(%)	Corrélation avec l'axe		
							CP 1	CP 2	
JAS	7.9	1	6	10	0.11	12.66	-0.037	-0.336	
PP	9.13	3.87	4	20	0.46	42.36	0.865	0.448	
PG	6.64	2.65	3	14	0.32	39.87	0.799	0.551	
HP	68.43	15.81	40	107	1.89	23.11	0.950	0.107	
DP	3.64	0.72	3	5	0.09	19.85	0.867	0.268	
NR	22.61	3.92	17	32	0.47	17.35	0.888	-0.135	
PT	14.39	6.71	6	33	0.80	46.64	0.893	0.399	
IR	46.90	5.92	25	55	0.71	12.62	-0.784	0.386	
IF	72.84	5.36	52	81	0.64	7.35	-0.751	0.537	
DEF	76.84	9.87	65	110	1.18	12.84	0.545	-0.517	
DUF	10.30	2.60	5	18	0.31	25.24	-0.012	-0.335	
MF	150.89	11.79	135	176	1.41	7.81	0.910	-0.312	
NG	1322.06	644.53	538	3337	77.04	48.75	0.574	0.111	
P100	0.35	0.09	0.139	0.524	0.01	26.57	-0.318	0.653	
Composante									
Valeur propre								7.36	2.23
Proportion (%)								52.59	15.93
Prop. cum. (%)								52.59	68.52

Le premier axe est déterminé positif par les variables de production de biomasse (poids des différents organes, ramification et hauteur des plantes, diamètre des panicules) et de durée de cycle (MF), et négatif par les indices de fertilité et de récolte (IF et IR) (Figure 4-4). Le second axe oppose la date de floraison (DEF) aux traits liés à la production finale de graines (PG, P100 et IF). Les variables JAS et DUF ne contribuent pratiquement pas à l'analyse et ne paraissent donc pas pertinentes pour expliquer la variabilité des populations étudiées.

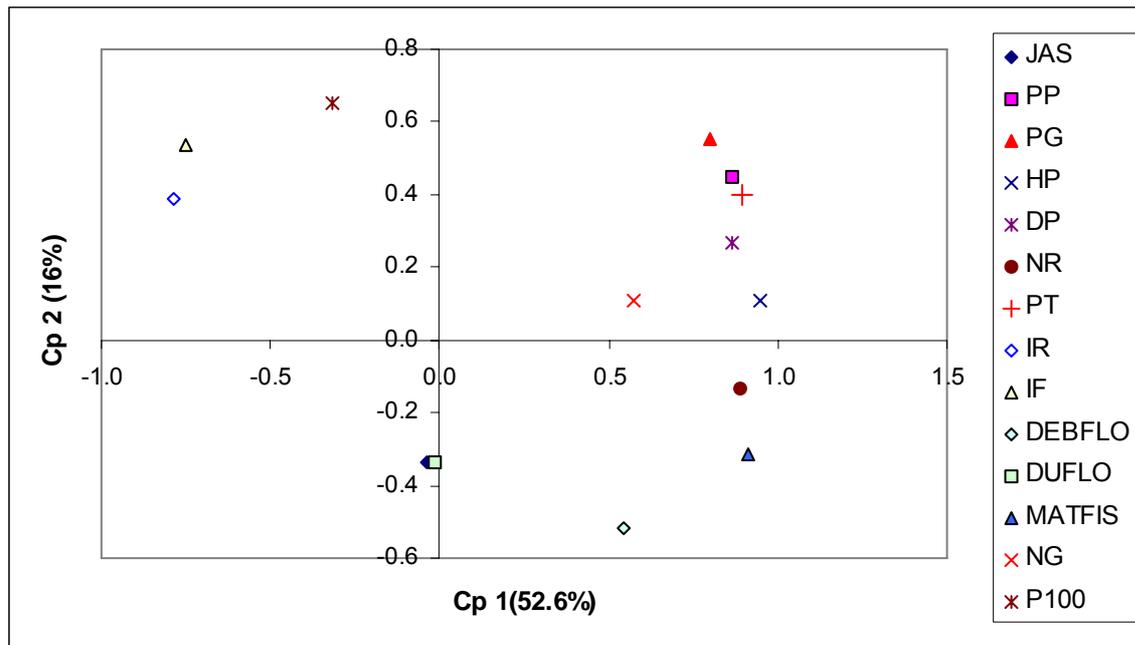


Figure 4-4 Projection des 14 descripteurs morpho-phénologiques sur les 2 premiers axes de l'ACP obtenue à partir des données des années 2004-2005 et 2005-2006.

La projection des familles sur les deux premières composantes permet de différencier les populations *njo*, *cep* et *vse* du côté positif de l'axe 1 (biomasses élevées, indices de récolte moyens à faibles, cycles longs), de la population *cig* au centre, et de *cte*, *sin* et *sjl* du côté négatif (biomasses plus faibles, cycles courts, indices de récolte élevés) (Figure 4-5). L'axe 2 oppose essentiellement la population de vallée (*vse*) aux six populations de l'altiplano, plus précoces et aux indices de récolte et de fertilité plus élevés.

Cette projection illustre aussi la grande diversité phénotypique intra-population de *njo*, *cep* et surtout *vse* (leur 10 familles respectives sont très dispersées). À l'inverse, les trois populations *cte*, *sin* et *sjl* provenant du sud de l'altiplano se révèlent phénotypiquement plus homogènes au niveau intra-population, et se superposent aussi largement entre elles.

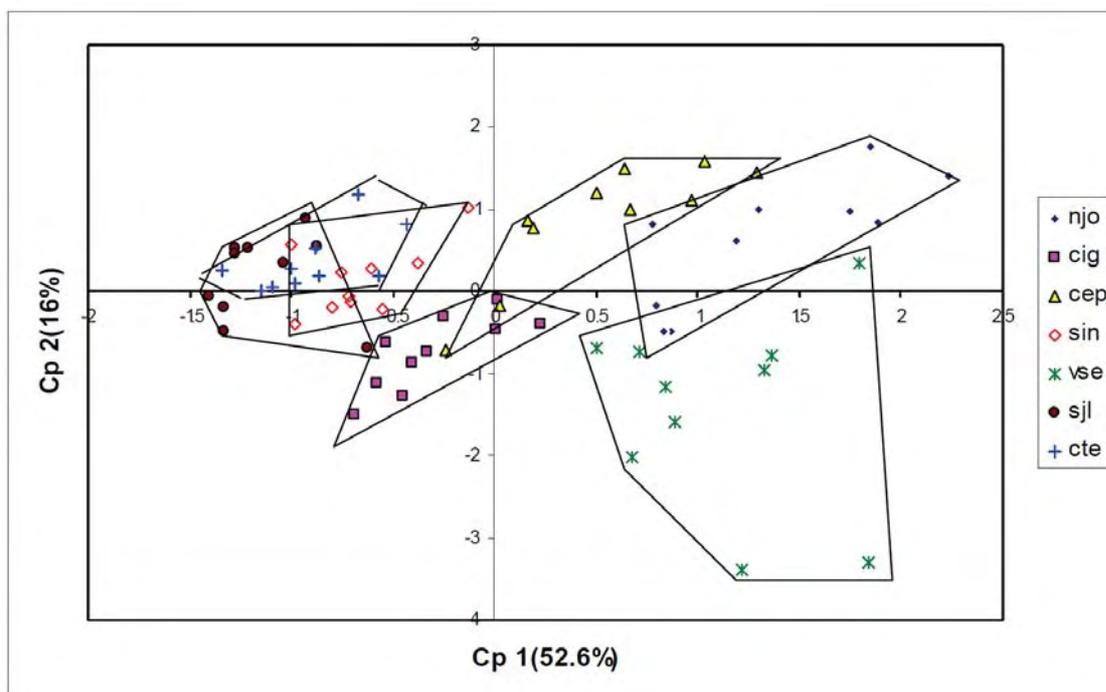


Figure 4-5 Projection des 70 familles de quinoa appartenant à 7 populations sur les 2 premiers axes de l'ACP obtenue à partir des données morpho-phénologiques des années 2004-2005 et 2005-2006.

Le dendrogramme basé sur les observations moyennes des deux années (Figure 4-6) classe les familles de plantes en trois groupes principaux :

- le groupe A rassemble la totalité de la population *vse* et la moitié environ des familles des populations *njo* et *cep*, soit 19 familles au total ;
- le groupe B regroupe le reste des familles de *njo* et trois familles de *cep*, soit 8 familles au total ;
- le groupe C réunit les familles restantes en deux sous-ensembles : d'une part toutes les familles de la population *cig*, associées à deux familles de *cep* et deux de *sin*, d'autre part les familles des trois populations de l'altiplano sud : *cte*, *sjl* et *sin*.

Les groupes A et B correspondent globalement aux populations de quinoa occupant les secteurs écologiques les plus tempérés : Altiplano nord, à moins de 4000 m d'altitude (*njo* et *cep*), et vallée inter-andine (*vse*). Elles se distinguent des populations du groupe C qui se situent, elles mêmes, dans les régions froides et arides de l'altiplano sud (*cte*, *sin*, *sjl*) ou à plus de 4000 m d'altitude dans l'altiplano nord (*cig*).

Deux des dix familles de *vse* (*vse* 2 et *vse* 3) se retrouvent à l'extérieur de l'arborescence principale : elles se caractérisent toutes deux par des valeurs particulièrement faibles d'indice de récolte (IR) et de fertilité (IF) liées à un développement végétatif important.

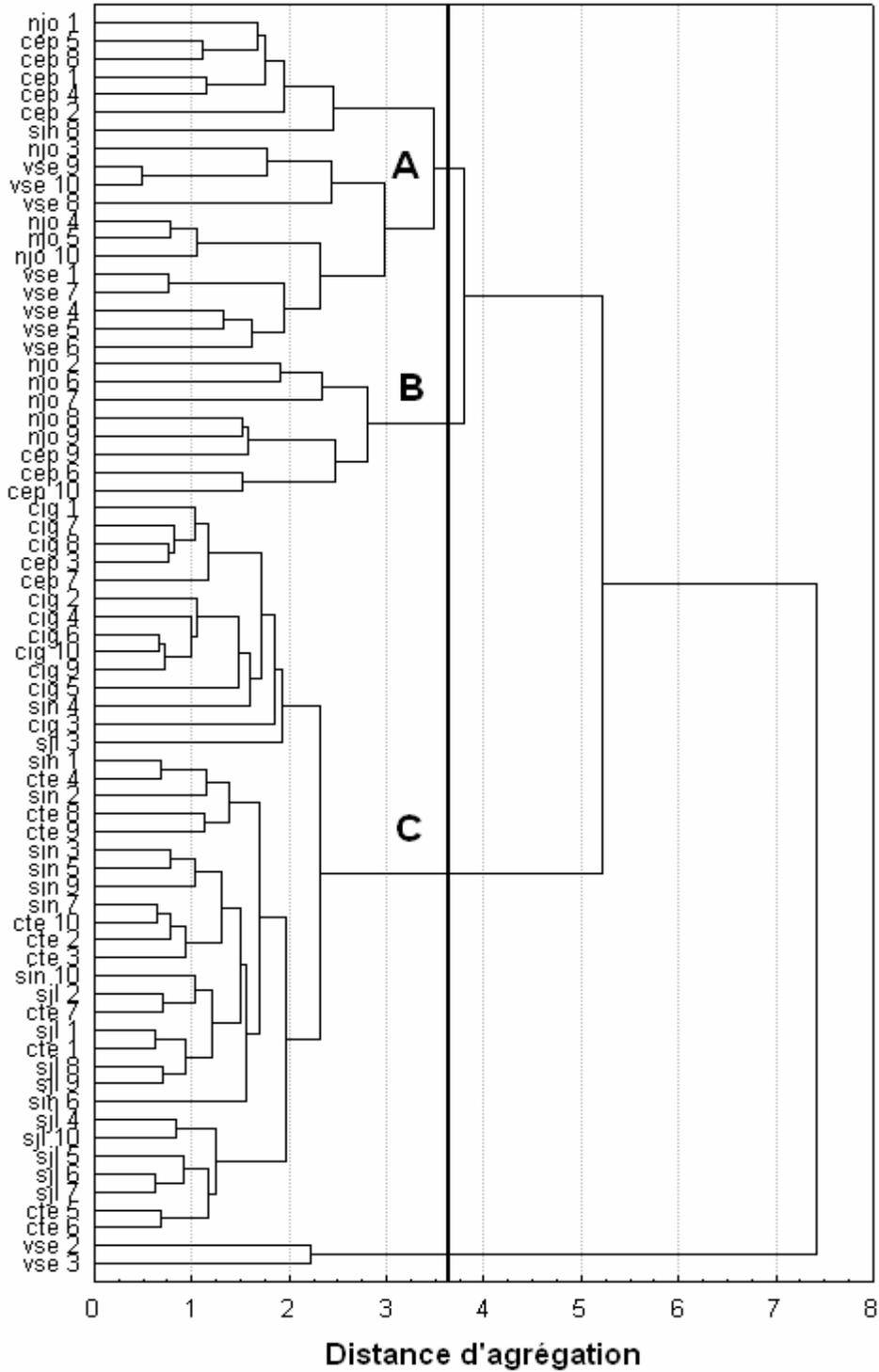


Figure 4-6 Dendrogramme UPGMA des 70 familles de quinoa appartenant à 7 populations sur la base des traits morpho-phénologiques moyens observés sur les deux années d'étude.

4.5.8 Analyse discriminante

L'analyse discriminante a été réalisée en utilisant comme variable catégorielle les trois groupes morpho-phénologiques obtenus dans la classification hiérarchique. L'identification des descripteurs les plus discriminants pour cette classification s'est faite à partir de l'indice lambda de Wilks dont les valeurs vont de 1 (variable non discriminante) à 0 (variable parfaitement discriminante) (Tableau 4-11).

Tableau 4-11 Test de signifiante des 12 descripteurs morpho-phénologiques observés sur les deux années d'étude.

Descripteurs	Lambda	F	p
JAS	1.000		
PP	0.796	8.089	0.0007
PG	1.000		
HP	1.000		
DP	1.000		
NR	1.000		
PT	0.748	10.593	0.0001
IR	0.795	8.126	0.0007
IF	0.787	8.491	0.0005
DEF	1.000		
DUF	1.000		
MF	0.827	6.568	0.0026

Les descripteurs morphologiques de production de biomasse totale (PT) et reproductive (PP), ainsi que les indices morphologiques dérivés (IR et IF) sont apparus comme les plus discriminants de la classification hiérarchique, avec des contributions très similaires. La date de maturité physiologique (MF) est également ressortie comme significativement discriminante. En revanche, les variables morphologiques PG, HP, DP, NR et la date de floraison DEF, significatives dans l'ACP, ont été exclues lors de la procédure de régression descendante, vraisemblablement du fait de la redondance liée à leur forte corrélation statistique avec les cinq variables les plus discriminantes.

4.5.9 Analyse de contingence morphologie/génétique

Pour cette analyse la variable dépendante a été le vecteur des trois groupes générés par l'analyse moléculaire (voir Chapitre 3), et la variable indépendante a été le vecteur des trois groupes issus de la classification hiérarchique des traits morpho-phénologiques (paragraphe 4.4.6). Cette analyse n'a été appliquée qu'aux familles des six populations communes aux études par marqueurs RAPD et marqueurs phénotypiques, soit : *njo*, *cig*, *cep*, *vse*, *sin* et *sjl*. Dans le tableau 4-12, les lignes représentent les groupes moléculaires auxquels appartiennent les différentes familles et les colonnes

indiquent les groupes qui leurs sont assignés en fonction de critères phénotypiques. Les familles des groupes moléculaires 2 (*vse*) et 3 (*sin*, *sjl*) se répartissent respectivement dans les groupes phénotypiques A et C. En revanche, les 30 familles formant le groupe moléculaire 1 (*njo*, *cig*, *cep*) se trouvent dispersées dans les trois groupes phénotypiques de manière presque égale (8 à 12 familles par groupe). Les groupes moléculaires 2 et 3 correspondent donc chacun à des phénotypes distincts (1 et 3, respectivement). Mais ces mêmes phénotypes A et C sont génétiquement hétérogènes et recouvrent aussi chacun une dizaine de familles du groupe moléculaire 1. Le phénotype B, au contraire, n'est composé que de familles du groupe moléculaire 1.

Tableau 4-12 Tableau de classification croisée des trois groupes de quinoa.

	Phénotype A	Phénotype B	Phénotype C	Total
Moléculaire 1	10	8	12	30
Moléculaire 2	10	0	0	10
Moléculaire 3	1	0	19	20
Total	21	8	31	60

4.5 Discussion

Les sept populations de quinoa étudiées dans ce travail représentent un échantillon limité mais néanmoins représentatif de la diversité des écorégions où cette espèce est cultivée en Bolivie. Par ailleurs, l'échantillonnage hiérarchique d'individus et de familles au sein de ces populations donne accès à la diversité intra-population, connue pour être forte chez la quinoa mais rarement analysée dans la littérature. Les traits morpho-phénologiques des sept populations les différencient nettement entre elles. Globalement, ces traits conduisent à distinguer des groupes centrés sur le contraste entre altiplano nord, altiplano sud, et vallée inter-andine. La prépondérance de contrastes géographiques suggère que la différenciation des populations reflète avant tout des différences de pression de sélection du milieu, plus sévères dans l'altiplano sud du fait de la sécheresse, du froid et de la salinité, plus modérées dans la vallée interandine, et intermédiaires dans l'altiplano nord et aux abords du lac Titicaca. Ces gradients écologiques se traduisent premièrement sur les traits phénologiques des populations, par des floraisons plus précoces et des cycles plus courts là où le climat est plus rude. La précocité constitue une adaptation certaine à la brièveté de la saison des pluies dans l'altiplano sud, et au retour fréquent des gelées nocturnes dès la fin de l'été (rappelons nous que dans cette région le risque de gel persiste pratiquement tout au long de l'année). De nombreuses cultures annuelles (*e.g.* *Pennisetum glaucum*) présentent ce type d'adaptation par évitement de la sécheresse ("drought escape") chez leurs variétés occupant des zones semi-arides. Un cycle de développement plus court et des conditions de milieu plus sévères expliquent aussi que toutes les composantes de la production de biomasse des populations de l'altiplano sud (poids des différents organes, nombre de ramifications, hauteur des plantes, diamètre des panicules...) soient inférieures à celles des autres populations.

Néanmoins leur rendement relatif en grains est supérieur comme le montrent leurs indices de fertilité et de récolte significativement plus élevés, et aussi plus stables d'une année à l'autre. Il conviendrait ici d'établir la partie d'adaptation naturelle au milieu et de sélection par les agriculteurs dans l'obtention de ces meilleurs indices de production de grains. Il est reconnu que les gains de rendement potentiel de la plupart des céréales sont le résultat principalement de l'amélioration de la partition de biomasse vers les épis et les grains (Evans 1997). Avec des indices de récolte moyens proches de 0.50, les populations de quinoa testées se situent dans la gamme supérieure des céréales les plus productives (blé, maïs, riz). Parmi les facteurs environnementaux influant sur l'indice de récolte, Evans (1993) signale l'effet négatif que joue la densité de culture, en particulier sur les variétés anciennes sélectionnées pour de faibles densités. Le même raisonnement pourrait expliquer l'indice de récolte inférieur observé chez les quinoas originaires du nord de l'Altiplano, traditionnellement cultivées en rangs avec une densité de population supérieure à celle des cultures en poquets pratiquées dans l'altiplano sud.

Au sein même des différentes populations, la structure de la variation phénotypique était telle que la variation inter-familles surpassait fréquemment la variabilité intra-familles. Ceci suggère une héritabilité élevée des traits concernés, notamment la date de floraison (DEF), la hauteur des plantes (HP), le nombre de ramifications (NR) et le poids de 100 graines (P100). Comme pour le blé, le maïs ou le sorgho (Evans 1993), ces quatre traits phénotypiques caractéristiques des populations et peu sensibles aux variations environnementales sont donc aptes pour la classification taxonomique des variétés de quinoa. Chez *Bromus tectorum*, Rice & Mack (1991) notent également que la date de floraison et le poids individuel de graines sont non seulement les traits les plus caractéristiques de chaque population, mais aussi les plus stables face aux changements environnementaux. À l'inverse, les mêmes auteurs constatent que la production de graines, et de biomasse en général, sont beaucoup plus sensibles aux influences environnementales. Chez la quinoa, nous avons observé qu'une large partie de la variation des traits liés à la production de biomasse (PP, PG, PF, PT, NG) ou aux indices de récolte et de fertilité (IR, IF) se situait au niveau intra-familles, et qu'elle dépendait des conditions de culture : lorsqu'en Année 2 ces conditions sont devenues moins favorables, la variation intra-familles a sensiblement augmenté dans quatre des sept populations (*cep*, *cte*, *sin* et *sjl*). Ce qui est cohérent avec un impact renforcé des conditions de milieu sur la production de biomasse et, par conséquent, sur l'expression du phénotype individuel des plantes.

L'hétérogénéité inter-familles au sein des sept populations ressort nettement dans l'ACP qui oppose sur sa première composante les populations du nord et du centre de l'altiplano, fortement dispersées, à celles du sud dont les familles respectives sont davantage regroupées. Le test d'homogénéité des variances de Levene montre que le fait que les familles d'une même population soient également variables ou non dépendait des populations, des traits et des années. Certaines populations comme *cep* et, dans une moindre mesure, *cte* montraient une forte hétérogénéité entre familles pour la plupart des traits phénotypiques, alors que les familles de *cig* et *sin* étaient généralement plus comparables entre elles (ceci n'exclut pas, comme nous l'avons signalé précédemment, la variation élevée au sein de ces familles). La plus grande hétérogénéité des variances intra-familles dans les populations *cep* et *cte* pourrait provenir de croisements allogames plus fréquents chez les populations de l'altiplano

central où les populations de quinoa spontanées ("*ajaras*" en langue locale) sont plus répandues que dans les secteurs nord ou sud de l'Altiplano.

L'analyse de contingence entre les classifications moléculaire et phénotypique a révélé qu'il n'existait pas de correspondance exacte entre les groupes de quinoa différenciés par les deux méthodes. Si les groupes moléculaires 2 et 3 s'identifient à des phénotypes distincts (A et C respectivement), ces mêmes phénotypes sont hétérogènes et incluent une large partie de quinoas du groupe moléculaire 1. Une telle divergence entre classifications moléculaire et phénotypique a déjà été signalée chez d'autres espèces comme la tomate, le maïs ou le raygrass (Bar-Hen *et al.* 1995, Burstin & Charcosset 1997). Pour Roldán-Ruiz *et al.* (2001), cette divergence ne doit pas être considérée comme un défaut de ces deux approches : les phénotypes similaires ne sont pas nécessairement homogènes sur le plan génétique, et une correspondance étroite entre parentés moléculaires et morphologiques pourrait être l'indice d'un pool génétique limité, voire d'une érosion génétique de l'espèce considérée.

4.6 Conclusion

L'analyse de la variation phénotypique intra-spécifique permet d'approcher la variation des traits morpho-phénologiques des plantes, et peut servir à l'interprétation du caractère plus ou moins adaptatif de ces traits. Mieux que des marqueurs moléculaires isolés, ces traits quantitatifs complexes et sensibles à la variation environnementale apportent des informations sur les liens entre contraintes du milieu, traits de vie et capacités d'adaptation des populations (Carvajal-Rodriguez *et al.* 2005). Nos résultats montrent que plusieurs de ces traits morpho-phénologiques ont une forte structure populationnelle, en particulier ceux liés à la phénologie et à l'allométrie des plantes, ce qui justifie leur choix comme descripteurs privilégiés des populations (IBPGR 1981). Malgré les divergences entre classifications moléculaire et phénotypique, les deux approches révèlent un effet de structuration géographique des populations qui, dans le cas des marqueurs morpho-phénologiques, contraste les quinoas des milieux les plus difficiles pour l'agriculture (altiplano sud et zones froides de l'altiplano nord) de celles cultivées dans les zones plus tempérées des bords du lac Titicaca ou des vallées inter-andines.

La variation intra-population de ces traits est également structurée, avec une partie dominante de variation inter-familles qui suggère une héritabilité élevée. Au contraire, les traits liés à la biomasse des différents organes, notamment les panicules et les graines, ont une forte variabilité inter-individuelle et sont sensibles aux changements environnementaux. Selon Carvajal-Rodriguez *et al.* (2005), une variation intra-population élevée des traits quantitatifs indique une pression de sélection peu intense, laquelle peut résulter d'une variance environnementale importante. Ce raisonnement paraît corroboré dans le cas de l'Altiplano bolivien, où le climat joue un rôle majeur dans la variabilité du milieu. Nous avons observé, en effet, une variation phénotypique forte au sein des populations *cep*, *njo* et *vse* provenant de régions tempérées mais susceptibles de subir des épisodes de sécheresse et de gelées, alors que les populations *cig*, *sjl*, *sin* et *cte* issues de secteurs constamment arides et froids ont une variation intra-population moindre. La différenciation des populations de quinoa de l'Altiplano bolivien serait ainsi largement déterminée par la sélection sous l'effet de facteurs environnementaux, en particulier climatiques, et de leur variabilité locale.

CHAPITRE 5
CROISSANCE, HÉTÉROGÉNÉITÉ ET RÉPONSE AUX BASSES
TEMPÉRATURES CHEZ DEUX VARIÉTÉS DE QUINOA
GÉNÉTIQUEMENT CONTRASTÉES

5.1 Introduction

Les êtres vivants sont fréquemment confrontés à des conditions environnementales, à la fois spatiales et temporelles, très changeantes. Une grande plasticité, notamment chez les espèces végétales, peut favoriser une meilleure adaptation à des environnements soumis à des variations climatiques. Des modifications physiologiques ou morphologiques peuvent également être sélectionnées dans un type d'environnement donné. La culture de quinoa, plante productrice de grains à qualité nutritionnelle élevée, a pris une importance nouvelle sur l'Altiplano bolivien en tant que culture d'exportation économiquement intéressante pour les régions pauvres où elle est cultivée. La quinoa est connue par son adaptation notable aux conditions difficiles des montagnes andines, le gel étant le risque principal de cette culture (Jacobsen *et al.* 2005). Le climat de l'Altiplano se caractérise par une saison sèche d'hiver austral et une saison humide d'été austral correspondant à la période de culture (septembre à mai). Les amplitudes thermiques journalières y sont fortes de l'ordre de 15 à 20 °C, le rayonnement solaire intense du fait de l'altitude, et les risques de gelées radiatives élevées pendant la saison de culture (Le Tacon 1989, Le Tacon *et al.* 1992). La pluviométrie moyenne varie de moins de 200 mm au sud des Salars d'Uyuni et Coipasa à près de 800 mm près du lac Titicaca. La variabilité inter- et intra-annuelle des précipitations est forte avec des risques de sécheresse élevés à tout moment du cycle de culture et des risques d'excès d'eau en début du cycle.

Face au caractère imprévisible du climat, la diversité biologique des agro-écosystèmes apparaît comme une condition favorable à la stabilité de la production agricole. Cependant, les impacts anthropiques sur l'environnement global se traduisent à la fois par des changements climatiques significatifs, par la modification de la distribution globale des organismes et par une perte de diversité biologique. Ces modifications altèrent de ce fait de nombreux processus au niveau des agro-écosystèmes et modifient la résilience de ces derniers face aux modifications du milieu. Ceci a des conséquences profondes pour les services que les agro-écosystèmes fournissent aux sociétés humaines (Chapin *et al.* 2000, Swift *et al.* 2004). Les liens entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes ont fait l'objet de nombreuses études expérimentales depuis une dizaine d'années. De nouvelles approches expérimentales ont été développées afin de manipuler des écosystèmes en laboratoire ou sur le terrain; elles ont permis d'étudier les effets de la diversité des espèces sur le fonctionnement des écosystèmes (Tilman & Lehman 2001, Loreau *et al.* 2001). L'observation de la diversité des agro-écosystèmes andins mets en évidence que leur adaptation face aux risques climatiques a été permis par le développement de pratiques agronomiques originales et par la manipulation d'une grande diversité d'espèces cultivées et de variétés au sein de chaque espèce (Lhomme & Vacher 2002, Morlon 1992, Vacher 1998). Plus généralement, les études théoriques sur le rôle de la diversité intra-spécifique des cultures sur leur tolérance face aux risques climatiques ont montré que cette diversité permettait une augmentation de la stabilité des propriétés émergentes telle que la production (Lhomme & Winkel 2002, Yachi & Loreau 1999). Il semble particulièrement important de vérifier ces résultats théoriques dans les agro-écosystèmes andins en voie de modifications rapides. En effet, le changement des pratiques actuelles se traduit entre autre par une standardisation des variétés cultivées alors que la fréquence des événements climatiques extrêmes

(gelée, sécheresse) est amenée à augmenter sous l'influence des changements climatiques planétaires.

La sensibilité d'une culture aux risques de gelée peut être reliée à un certain nombre de traits morphologiques et ontogéniques mais aussi à plusieurs caractéristiques de l'architecture du couvert comme hauteur et densité (e.g. Bois *et al.* 2006, Kalberer *et al.* 2006, Taschler & Neuner 2004, Scowcroft *et al.* 2000). La complexité des relations entre agrobiodiversité et stabilité de la production végétale peut se décomposer en paliers hiérarchiques, depuis les caractéristiques de la plante et du terrain jusqu'au fonctionnement de l'écosystème agricole. La quinoa fournit un bon modèle d'étude de par sa tolérance et résistance aux gelées et de par l'hétérogénéité fréquemment observée sur le terrain des plantes au sein d'une même parcelle de culture.

5.2 Objectifs

L'objectif général a été d'étudier les aspects agrophysiologiques des réponses au stress thermique (tolérance aux gelées) sur deux variétés de quinoa, Blanca de Yanamuyu et Surumi, qui se différencient par leur niveau d'hétérogénéité génétique.

Les objectifs spécifiques ont été les suivants : a) Identifier l'effet protecteur de l'hétérogénéité de la canopée sur le risque de gelée radiatif, b) caractériser l'hétérogénéité de la croissance et de la production.

5.3 Synthèse bibliographique

5.3.1 Pratiques de gestion agricole dans l'Altiplano

La production agricole sur l'Altiplano bolivien est un défi permanent quand on regarde les très grandes limitations du milieu (précipitations faibles et irrégulières, fréquence élevée des températures négatives tout au long de l'année). Le calendrier de culture est également fortement contraint par la saisonnalité des précipitations. Il faut que toutes les cultures soient arrivées à maturité à la fin de la saison des pluies. Tous les semis doivent donc être réalisés entre le moment où arrivent les premières pluies, de septembre à décembre suivant l'année et la région (bien que dans le sud de l'Altiplano il ne soit pas rare que ces précipitations se produisent sous forme de neige à la fin août), et celui où il est trop tard pour semer, soit entre octobre et décembre selon l'altitude et la culture.

Et pourtant, l'Altiplano bolivien est une des régions les plus habitées de Bolivie et représente un espace économique dynamique. L'activité agricole y est dominante bien que les rendements soient en général bas, l'utilisation d'intrants rare et la pratique de la jachère courante. La production est principalement auto consommée. Il s'agit de produits originaires des Andes (pommes de terres amères et douces, autres tubercules et racines, quinoa, produits de l'élevage de lama et alpaca¹¹) ou introduits (fèves, orge et avoine fourragers, légumes et produits de l'élevage de bovins, ovins, porcins, volailles ...). Les pratiques de gestion des agriculteurs andins combinent la dispersion des risques et la

¹¹ Llamas (*Lama glama*) et alpacas (*Lama pacos*) sont domestiqués depuis plusieurs millénaires. Ils sont élevés pour leur viande, leur lait, et leur laine. Leurs excréments sont utilisés comme fertilisants pour les cultures mais aussi comme combustible.

complémentarité des ressources en associant fréquemment des variétés très plastiques ou encore des mélanges de variétés ou enfin des associations de cultures au sein d'une même parcelle ou d'un même terroir (Morlon 1992, Vacher *et al.* 1998). C'est dans ce cadre que nous nous plaçons pour aborder l'importance de la plasticité phénotypique comme stratégie de réponse à l'hétérogénéité des contraintes du milieu, en particulier des risques de gelée.

5.3.2 Caractérisation des risques de gelée sur l'Altiplano bolivien

Le risque de gelée est très important sur l'Altiplano tout au long de la saison de culture qui s'étale du mois d'octobre à la fin du mois d'avril. Au mois d'octobre, les gelées nocturnes commencent à être mois fréquentes puis à disparaître, ce qui permet les semis. La période libre de gel, disponible pour l'agriculteur est comprise entre la dernière gelée de printemps et la première gelée d'automne. Selon les années cette période sera plus ou moins longue (Le Tacon 1989). Sur l'Altiplano les gelées préjudiciables pour l'agriculture ne sont pas dues à des arrivées d'air polaire, mais sont produites localement par un bilan de rayonnement fortement négatif la nuit (François *et al.* 1990). Il s'agit de gelées de type radiatif (Le Tacon *et al.* 1992) qui ont lieu dans des conditions météorologiques calmes, de ciel clair et d'humidité faible de l'air. L'humidité de l'air joue un rôle très important sur l'intensité des gelées (Du Portal 1993). La topographie locale influe aussi fortement avec des températures nocturnes plus basses dans les zones ouvertes en bas de pente que sur les versants. Les agriculteurs boliviens ont développé les cultures en terrasse sur les versants afin de s'affranchir de ces variations locales et éviter les dégâts aux cultures provoqués par les températures négatives des bas-fonds. Les gelées printanières sont les plus nocives car elles se produisent pendant la période de croissance (Torres 1984). Cependant, les gelées, tant de type statique (les plus fréquentes), que de type dynamique (très rares) ont une importance particulière car elles peuvent se produire pendant n'importe quelle étape de la croissance des plantes, avec des conséquences désastreuses pour la production (Mujica *et al.* 2001b). La diversité des cultures et variétés sur un même terroir permet donc aux agriculteurs andins d'affronter les risques climatiques et d'assurer la stabilité de la production agricole sur l'Altiplano. Au sein d'une même variété, c'est la plasticité phénotypique qui permettra de limiter les risques face aux événements climatiques tels que les gelées.

5.3.3 Plasticité phénotypique

La plasticité phénotypique est une réponse aux contraintes environnementales, en sachant que le phénotype est le résultat de l'interaction entre un génotype particulier et les conditions de milieu. Elle permet la survie et la reproduction d'un individu dans un environnement hétérogène et variable, et a été définie comme "la variation de l'expression phénotypique d'un génotype qui se produit en réponse à des conditions environnementales particulières et qui manifeste la capacité individuelle à survivre sous ces conditions" (Sultan 1987). La plasticité phénotypique peut être exprimée à travers des changements physiologiques, phénologiques et/ou morphologiques, quand ce génotype est placé dans différentes conditions environnementales. Ainsi un génotype déterminé a la capacité de révéler plusieurs phénotypes résultats de facteurs environnementaux locaux limitants (Ryser & Eek 2000). C'est la raison pour laquelle la description détaillée de l'environnement est nécessaire pour analyser la

variabilité des réponses réalisées par différentes plantes (Sultan 1987). En constituant un mécanisme d'adaptation individuelle à un environnement hétérogène non prédictible, la plasticité est une caractéristique fondamentale de la croissance des plantes (Pigliucci 2005, Hoffmann *et al.* 2005). Elle permet le maintien de la diversité génétique dans la population, un ajustement démographique et atténue les effets des changements environnementaux spatiaux et temporels qui affecteraient la sélection naturelle (Grime 1997, Sultan 1987). La plasticité des caractères est basée sur le contrôle génétique (Bradshaw 2006), certaines structures et processus étant susceptibles de modifications mineures (comme les feuilles et les caractéristiques florales), tandis que d'autres sont plus flexibles, comme le caractère pubescent et le nombre de tiges (Hoffmann *et al.* 2005). La plasticité est une stratégie qui permet aux végétaux d'optimiser l'acquisition des ressources et leur taux de croissance ainsi que la colonisation d'environnements contrastés (Ryser & Eek 2000).

5.3.4 Mécanismes de réponses de la culture de quinoa au gel

Des interactions complexes entre basses températures et autres facteurs abiotiques interviennent généralement dans les mécanismes de résistance au froid. Sakai & Larcher (1987) ont montré que dans les environnements froids, les jeunes plants d'espèces annuelles montrent une plus grande résistance au gel que les plantes aux phases phénologiques de floraison ou maturité physiologique (Sakai & Larcher 1987). Il a également été démontré que cette résistance dépendait très fortement des relations entre stades phénologiques et périodes d'acclimatation (Fowler *et al.* 1999). De nombreuses études ont montré que la quinoa pouvait résister à des températures très basses : des recherches en conditions de champ signalent que quelques cultivars pourraient résister à des températures de $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Vacher 1998) et même $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant la croissance végétative (Catacora & Canahua 1992). Un ensemble de modifications morphologiques (réduction de taille et multiplication des ramifications) et physiologiques (plasticité dans le développement, récupération rapide après une période de gelée, et plus grande résistance après avoir subi un pré conditionnement) apparaissent chez les plantes de quinoa en réponse aux basses températures. Les vésicules présentes sur les feuilles ont souvent été considérées comme permettant une protection thermique et/ou hydrique bien que des travaux récents mettent en doute l'efficacité de ces vésicules dans la protection contre le gel (Bois *et al.* 2006). La phénologie peut aussi présenter des modifications avec un raccourcissement de la période de floraison, et l'apparition d'un asynchronisme dans la floraison de la panicule. Enfin des modifications biochimiques comme l'accumulation de sucres solubles et de protéines abaissent le point de congélation et permettent une protection de la plante jusqu'à un certain seuil de température (Monteros 2000, Mujica *et al.* 2001b). L'étude des réponses de la quinoa aux basses températures a permis d'établir que le niveau de dégât occasionné par les gelées dépend de l'intensité et la durée de ces basses températures, de l'humidité relative, de la phase phénologique pendant laquelle elles se produisent, et de la constitution génétique des génotypes (Monteros & Jacobsen 1999). Les basses températures retardent significativement l'imbibition du grain et l'élongation de la racine (Rosa *et al.* 2004). Au stade juvénile (deux feuilles), certaines variétés de quinoas peuvent survivre à des températures de $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant environ 2 heures (Monteros & Jacobsen 1999). Limache (1992) a observé que des intensités des gelées variant entre $-0,5$ et $-6,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ n'affectaient pas fortement les quinoas pendant la période végétative (du stade six feuilles au début de formation de la panicule).

Cependant, après formation de la panicule, elles deviennent plus sensibles aux températures basses. Jacobsen *et al.* (2005) ont montré une plus grande susceptibilité au gel pendant la phase de floraison ou l'anthesis que dans les phases de croissance végétative. Comme pour le stress hydrique, la floraison et le stade "grains laiteux" sont les phases de croissance les plus sensibles au stress thermique pour la quinoa. Un temps d'acclimatation au froid permet d'augmenter la tolérance de la quinoa, par la capacité de former de la glace extracellulaire et par conséquent de tolérer la déshydratation des tissus sans dommages irréversibles. La capacité de "supercooling" ou sur-refroidissement est un mécanisme pour éviter les dommages immédiats causés par les basses températures. Certaines variétés résistantes comme Witulla peuvent accumuler beaucoup plus de sucres solubles que les variétés sensibles comme Quillahuaman, ce qui indiquerait que ces sucres solubles agiraient comme osmorégulateurs, en évitant la sortie d'eau de l'intérieur de la cellule. De même, la baisse de température entre 19 °C et -4 °C a entraîné une augmentation de 40% de la concentration en proline chez le cultivar résistant (Jacobsen 2000).

La température des plantes au sein d'une parcelle agricole dépend de nombreux facteurs, comme la hauteur du couvert, la densité des plants. On considère généralement que pendant la journée, la température des plantes est de 1 à 2 °C supérieure à celle de l'air ambiant, et la nuit, de 1 à 2 °C plus basse (Ledesma 2000). Dans un couvert hétérogène, les plantes hautes agissent comme couche de protection pour les plantes plus petites. Peu d'études ont cependant abordées au champ l'influence de l'hétérogénéité sur la tolérance au froid nocturne. Comme la plasticité phénotypique de la quinoa se traduit souvent par des hauteurs de plants très variables au sein des parcelles agricoles, un des objectifs de cette étude était de tester l'influence de cette hétérogénéité sur la résistance au gel.

5.4 Matériel et méthodes

5.4.1 Site d'étude

L'étude expérimentale a été conduite sur deux cycles de culture (2001/2002 et 2002/2003) à la Station Expérimentale de Choquenaira dépendant de la Faculté d'Agronomie de l'Université Mayor de San Andrés de La Paz. Cette station est située à 32 km au sud ouest de La Paz, à une altitude de 3858 mètres. Sa situation géographique, par 16°41' de latitude sud et 68°18' de longitude ouest, en fait un site représentatif des conditions climatiques de la culture de quinoa de l'Altiplano nord bolivien. Le climat qui prédomine dans la zone se caractérise par un été semi-humide et froid d'environ six mois (octobre-mars), suivi d'un hiver aride et froid (avril-septembre). La température moyenne journalière varie de 11 °C au milieu de l'été (décembre à février) et à 5,6 °C en hiver (juin à août) (Udabe 1994, Vacher 1998). Les températures extrêmes sont de -5 °C la nuit, et de 23 °C la journée. Les températures minimales moyennes sont de -3,4 °C et les maximales de 15,6 °C, avec une humidité moyenne de 58%, et des pluies présentent une moyenne annuelle de 619 mm. Les gelées sont d'origine radiative, généralement nocturnes, et se produisent selon la topographie et le type de sol, le plus fréquemment en hiver, mais occasionnellement aussi en été (janvier, février et mars), époque de plein développement de la culture. Le Tacon *et al.* (1992) ont ainsi calculé qu'à la Station Expérimentale de Viacha le risque d'une gelée à -3 °C n'est nul qu'une décade par an (Figure 5-1).

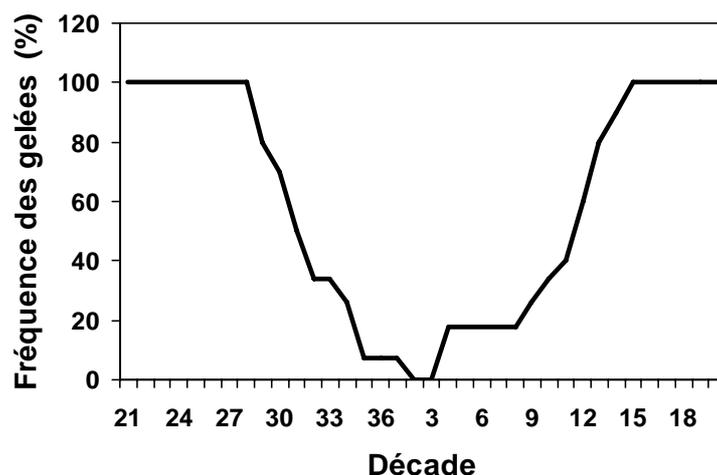


Figure 5-1 Fréquence des gelées au seuil de $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ au cours du cycle de culture à Viacha (d'après Le Tacon *et al.* 1992).

La végétation prédominante dans la zone se compose d'espèces natives herbacées et arbustives (paja brava (*Festuca dolichophylla* J. Presl et *Festuca rigescens* (J. Oresl) Kunth), espèces de thola (*Parastrephia quadrangulare* (Meyen) Cabrera et *Baccharis boliviensis* (Wedd.) Cabrera). Les arbres eucalyptus (*Eucalyptus* ssp), queñua (*Polylepis besseri* subsp. *Incarum* (Bitter) M. Kessler), kishuara (*Buddleja montana* Britton) sont pratiquement absents. Parmi les espèces cultivées on trouve la pomme de terre (*Solanum* spp.), la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), l'orge (*Hordeum vulgare* L.), la papalisa (*Ullucus tuberosus* Loz.), l'oca (*Oxalis tuberosa* Mol.), l'avoine (*Avena sativa* L.), la fève (*Vicia fava* L.), la kañahua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen).

5.4.2 Matériel biologique et mode de culture

Deux variétés de quinoa présentant a priori, des degrés d'hétérogénéité inter-individuelle contrastés ont été comparées :

- la variété Surumi (Su), créée en 1977 par l'Institut Bolivien de Techniques Agricoles (IBTA) à partir du croisement des variétés Sajama et Chiara. Cette variété sélectionnée peut atteindre une hauteur de 1,30 m ; elle a une couleur pourpre dominante à la floraison, et rosée à la maturité physiologique ;
- la variété Blanca de Yanamuyu (BY) est une variété locale sans origine fixe, considérée plus hétérogène génétiquement que la variété Surumi, elle présente une couleur verte à la maturité physiologique, et atteint une hauteur moyenne de 75 cm.

Les semis ont été réalisés le 18 octobre 2001 pour le premier essai (2001-2002), et le 30 octobre pour le second (2002-2003). Ils ont été réalisés manuellement, à une profondeur d'environ 5 cm, en sillons continus distants de 50 centimètres. La quantité de semences utilisée était de 2,5 g par sillon de 5 m pour les deux variétés, équivalant à une densité de 10 kg/ha. Les cultures ont été conduites sans fertilisation ni irrigation.

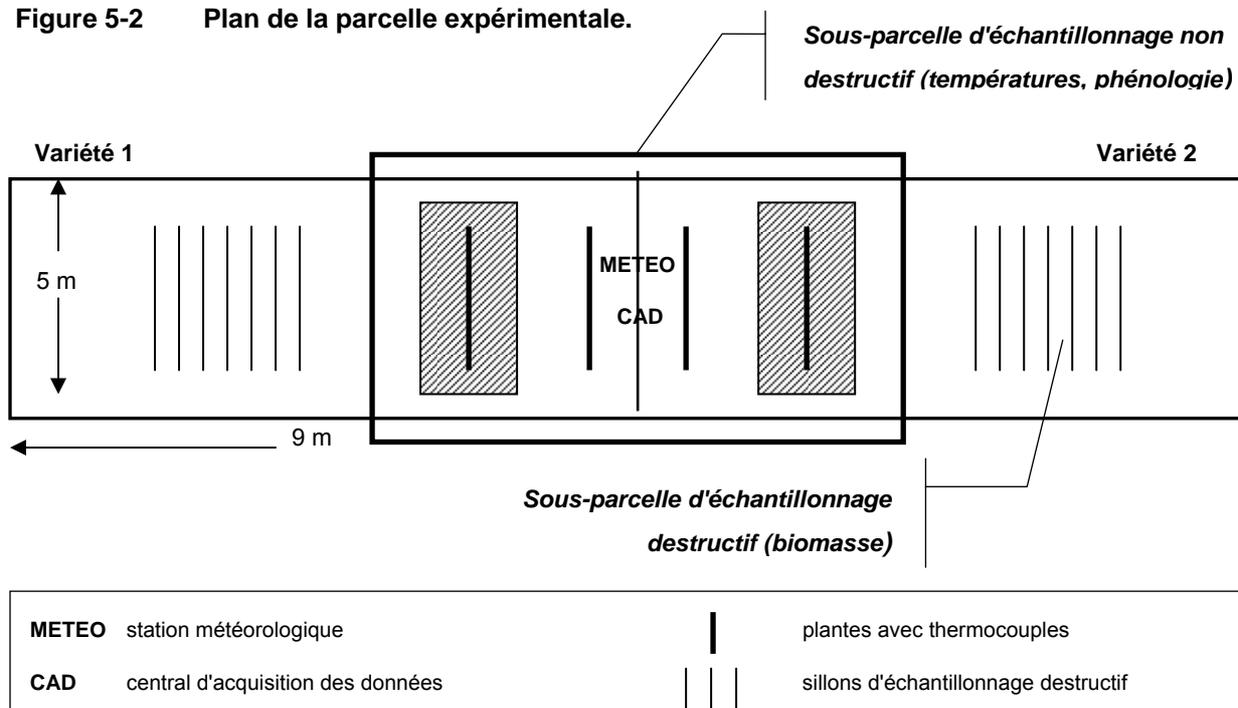
La récolte a été échelonnée en fonction de la maturité des plantes. Pour l'essai 2001-2002, le traitement Surimi a été récolté le 19 mars à 146 JAE (Jour Après Emergence), puis la Blanca le 9 avril (JAE = 167). Pour l'essai 2002-2003, la récolte finale a eu lieu le 25 avril (JAE = 135) pour les deux variétés.

5.4.3 Plan expérimental

Le plan expérimental ainsi que les caractéristiques de la parcelle sont schématisés dans la figure 5-2. Pour chaque variété, 16 plantes ont été sélectionnées pour représenter la gamme d'hétérogénéité de hauteur (i.e. on a choisi volontairement des plantes grandes, moyennes et petites), soit un total de 32 plantes.

L'enregistrement des températures foliaires, des températures de l'air à différentes hauteurs (5, 10, 25, 50, 100 et 150 cm), de l'humidité relative à 1,5 m, de la température du sol à -5 cm de profondeur, de la radiation solaire et de la vitesse du vent à 2 m, a été réalisé via une station météorologique installée au centre des parcelles expérimentales et connectée à une centrale d'acquisition de données (CR21X, Campbell Scientifique), alimentée en énergie par un panneau solaire. Les températures de l'air et des feuilles ont été mesurées à l'aide de thermocouples cuivre-constantan, de haute précision (0,05 °C). Dans l'air, ces thermocouples étaient placés sous des abris de bois peints en blanc pour éviter l'exposition directe à la pluie et au soleil. Pour les feuilles, les thermocouples étaient fixés à la face inférieure des limbes à l'aide d'une bande adhésive micro poreuse. Leur contact avec la feuille était vérifié chaque jour. Ils étaient rehaussés au fur et à mesure de la croissance des plantes pour correspondre toujours à des feuilles matures en pleine activité physiologique.

Figure 5-2 Plan de la parcelle expérimentale.



5.4.4 Variables mesurées

5.4.4.1 Phénologie et croissance des plantes

Le suivi de la croissance des plantes a été réalisé tous les 7 jours, en enregistrant le nombre total de feuilles (sénescentes et vivantes) de la tige principale, le nombre de ramifications de la tige principale, la hauteur de la plante. La durée de la floraison a été enregistrée lors du deuxième cycle de culture (2002-2003). Par ailleurs, les débuts et fins de floraison ont été enregistrés.

5.4.4.2 Matière sèche

La détermination de matière sèche a eu lieu après la récolte, en séparant les composantes de la partie aérienne des plantes (feuilles, tige et panicules). Les échantillons ont été séchés pendant 48 heures à 65 °C dans une étuve ventilée (Ingeniería y Control Ambiental, Cochabamba, Bolivie), puis pesés à l'aide d'une balance de précision.

5.4.4.3 Potentiel hydrique foliaire

Le potentiel hydrique foliaire a été mesuré au moyen d'une chambre à pression Scholander (PMS Instrument Company, Corvallis, USA) en y introduisant le limbe de la feuille et en laissant le pétiole dépasser à l'extérieur à travers un joint de caoutchouc. La pression a été appliquée au moyen d'azote jusqu'à l'apparition d'un exsudat sur la section du pétiole. À cet instant la pression affichée sur le manomètre de la chambre de Scholander est considérée égale au potentiel hydrique foliaire (PHF) c'est-à-dire, approximativement, à la force de succion exercée par la plante sur la sève du xylème. L'unité de mesure utilisée est le mégapascal (1 MPa = 10 bars), et les valeurs sont négatives, la succion correspondant à une pression négative. Plus l'extraction de l'eau du sol est difficile pour la plante (stress hydrique), plus le potentiel hydrique foliaire est négatif. A chaque journée de mesure, deux valeurs particulières du potentiel hydrique foliaire ont été relevées : le PHF de base et le PHF minimal. Le premier, mesuré avant le lever du soleil, entre 5h30 et 6h30, est un indicateur de la disponibilité de l'eau du sol dans la zone explorée par les racines. Le second, mesuré en milieu de journée entre 11h45 et 12h45, est un indicateur du niveau de stress hydrique subi par la plante au moment où la demande évaporative est à son maximum journalier. Les mesures ont commencé à 63 JAE en 2001-2002, et 74 JAE en 2002-2003, et se sont répétés tous les 8 à 10 jours jusqu'à la récolte finale.

5.4.5 Analyse statistique

Le modèle d'analyse de variance des données a considéré les effets variété (V1 Surumi, V2 Blanca de Yanamuyu) et cycles de culture ainsi que l'interaction entre ces facteurs. Les analyses ont été conduites à l'aide de la procédure GLM (Modèles Linéaires Généraux) du programme SAS v.8 (SAS Institute 1999).

5.5 Résultats

5.5.1 Conditions climatiques des cycles de culture

Il est important de signaler que le 4 décembre 2001 (JAE 41), avant l'installation des thermocouples et lorsque les plants étaient encore dans leur phase de ramification la parcelle fut touchée par une gelée forte et prolongée atteignant $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ à 5h30 et avec des températures inférieures à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 1 heure et 20 minutes (mesures à 1,50 m du sol). Cette gelée de printemps a affecté considérablement les plantes. Malgré cela, la culture a pu survivre grâce à une repousse sur ses ramifications principales. Cependant, à cause des dégâts occasionnés sur la tige principale, on a constaté chez ces plantes une difficulté à rester verticales lorsqu'elles se trouvaient en phase de remplissage des grains, à cause du poids des panicules. Le second cycle de culture a été marqué par une série de grêles et de gelées. La grêle la plus intense, d'une durée approximative de 15 minutes, s'est produite avant l'installation des thermocouples le 21 janvier 2003 (JAE 38), lorsque les plantes étaient au stade 4-6 feuilles vraies avant la ramification. Par ailleurs, une gelée s'est présentée le 9 avril 2003 (JAE 116), endommageant particulièrement la variété Surumi qui se trouvait au stade grains laitoux.

La figure 5-3 présente la distribution des précipitations mensuelles pendant la période de la culture pour les deux années d'expérimentation. La comparaison des précipitations reçues de 2001 à 2003 avec les moyennes trentenaires fait apparaître un déficit de précipitations pour presque tous les mois de culture, sauf pour le mois d'avril 2003. Le total de précipitation enregistrée pendant la période novembre-avril a été de 405 mm pour la première année et 374 mm pour la deuxième année, alors que la moyenne trentenaire est de 479 mm, ce qui correspond à un déficit de 25% la première année et de 22% la seconde année.

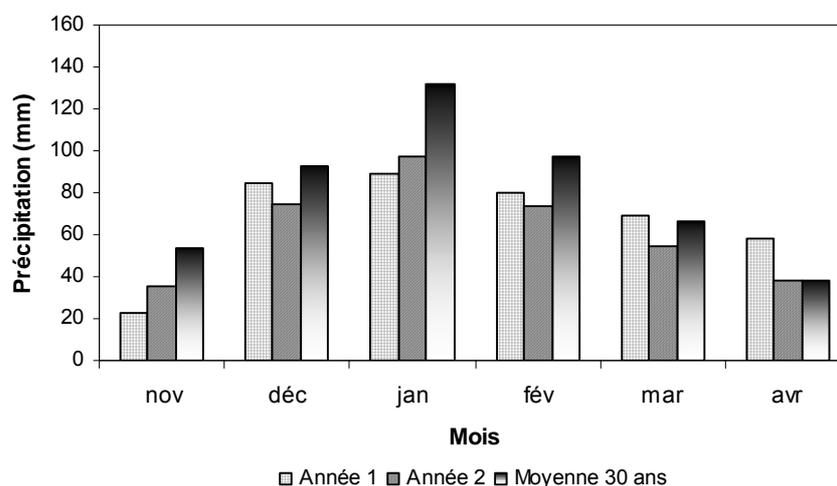


Figure 5-3 Répartition des précipitations mensuelles au cours des deux cycles de culture et en moyenne sur 30 ans à la station expérimentale de Choquenaira.

Les températures journalières maximales de l'air enregistrées à une hauteur de 1.5 m ont varié entre 9.8 et $22.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ avec une moyenne de $16.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour la première année, et entre 9 et $19.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ avec une

moyenne de 14 °C pour la deuxième année. Les températures journalières minimales de l'air ont varié de leur côté de -2.3 à 4.8 à °C, et de -10 à 4.8 °C, avec des moyennes de 1.7 et -2.6 °C pour les deux années respectivement (Figure 5-4). À 0.5 m de hauteur, ces mêmes températures ont varié pendant le premier cycle de culture de 11.5 à 25 °C pour les maximales, avec une moyenne de 20 °C, et de -3.6 à 4.5 °C pour les minimales, avec une moyenne de 0.9 °C. Pendant le second cycle de culture, elles ont varié entre 11.1 et 25.4 °C pour les maximales, avec une moyenne de 18.1 °C, et de -13.2 à 4.8 °C pour les minimales (Figure 5-4).

Au cours du premier cycle agricole, des valeurs négatives de température minimale à 0.5 m (figure 5-4) ont été enregistrés à 38 JAE, quand les plantes se trouvaient en début de ramification ($T_{min} = -2.3$ °C) puis quand elles complétaient leur floraison (66 JAE, $T_{min} = -2.3$ °C ; 89 JAE, $T_{min} = -3.9$ °C).

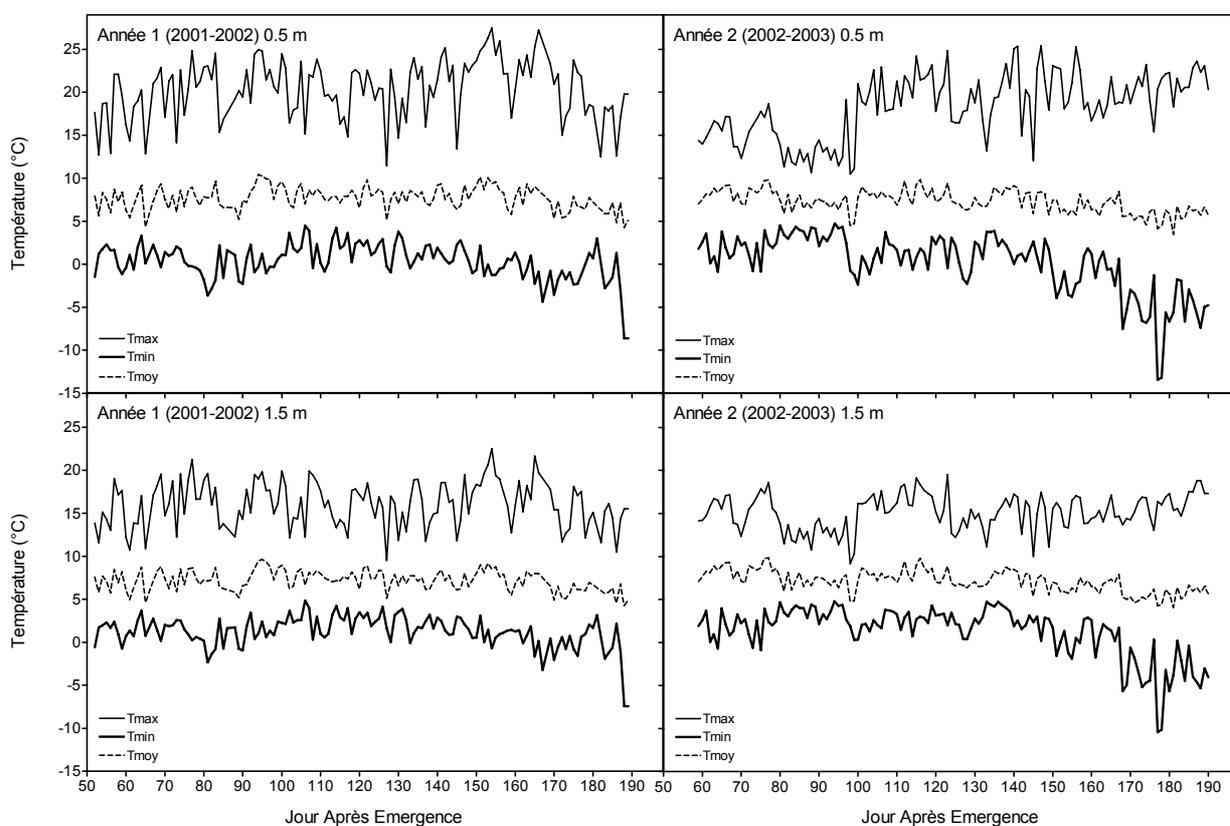


Figure 5-4 Variations de la température de l'air à 0.5 m et 1.5 m de hauteur au cours des deux cycles de culture dans la Station Expérimentale de Choquenaira.

5.5.2 Potentiel hydrique foliaire

Les valeurs de potentiel de base (Figure 5-5) ont diminué au cours de la première saison de culture mais sans que les plantes ne subissent de stress hydrique important, sauf pour les JAE 93 à 101 qui correspondaient aux derniers jours de janvier, avec un léger déficit hydrique dû à l'absence de pluies pendant les 10 jours précédents. Aucune différence significative n'est apparue entre les variétés.

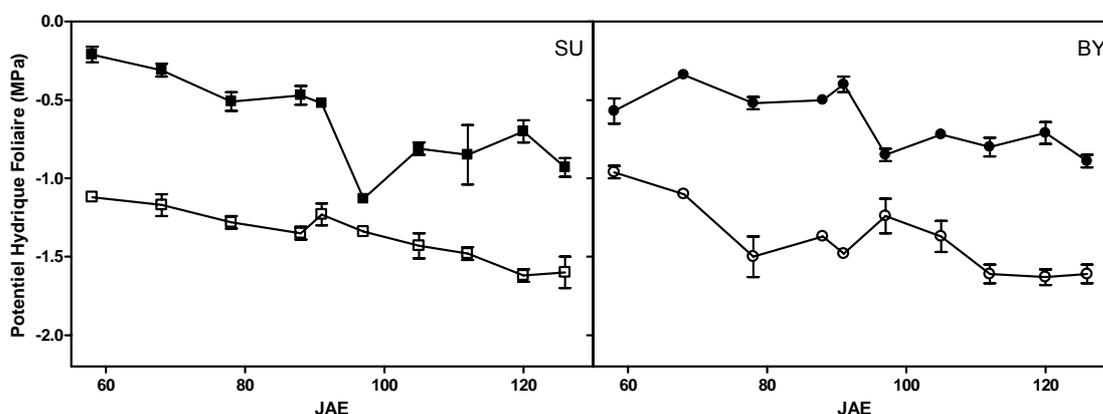


Figure 5-5 Dynamique du potentiel hydrique de base (noir) et minimal (blanc) au cours du premier cycle de culture (SU : Surumi, BY : Blanca, les barres verticales correspondent à l'erreur standard, n = 5, JAE = jour après émergence).

Au cours de la saison de croissance 2002-2003 (Figure 5-6), la dynamique des potentiels a été semblable pour les deux variétés. Une diminution lente du potentiel hydrique de base a été observée le long du cycle, suggérant à la fois une réduction de la disponibilité en eau du sol et une sénescence progressive des feuilles. À la fin du cycle, la forte chute du potentiel de base dans les deux variétés pourrait aussi être mise en rapport avec une sénescence foliaire accélérée provoquée par des gels nocturnes plus fréquents à cette époque de l'année.

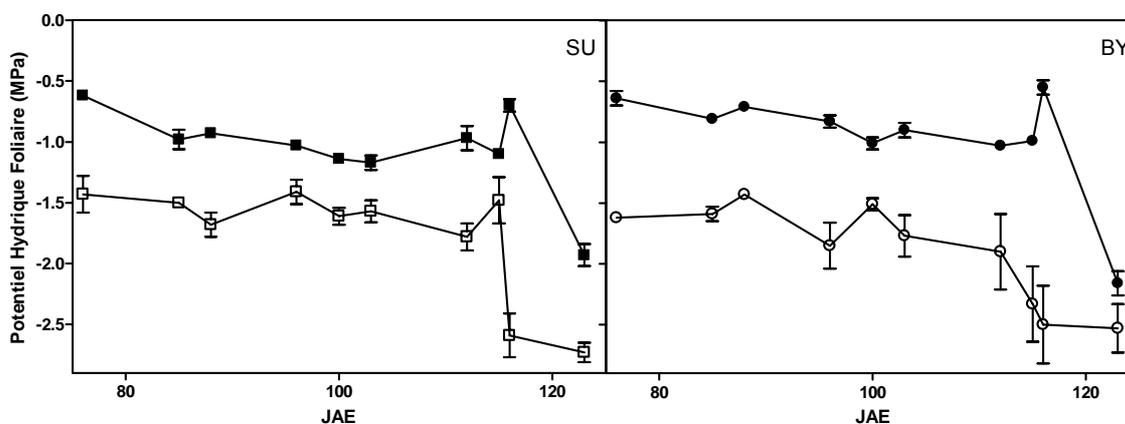


Figure 5-6 Dynamique du potentiel hydrique de base (noir) et minimal (blanc) au cours du deuxième cycle de culture (SU : Surumi, BY : Blanca, les barres verticales correspondent à l'erreur standard, n = 5, JAE = jour après émergence).

Pendant les deux cycles de culture étudiés, les deux variétés n'ont pas présenté de différence significative de comportement hydrique. Les potentiels mesurés sont en deçà d'un niveau de stress hydrique important indiquant qu'il n'y a pas eu de contrainte d'alimentation en eau pouvant influencer sur la croissance et la production de biomasse des plantes.

5.5.3 Dynamique des températures de l'air et des plantes au sein du couvert

5.5.3.1 Profils verticaux de températures

La figure 5-7 présente les profils verticaux de température minimale de l'air enregistrés pour 5 dates au cours des deux cycles de culture. Ils forment une courbe concave, avec des températures supérieures au niveau du sol et à 1 m, et des températures plus basses à 0.5 m. On note que la différence de température entre le niveau du sol et 0,5 m peut atteindre jusqu'à 3 °C (p. ex. à 80 et 99 JAE en 2001-2002, et 51 et 93 JAE en 2002-2003), et que la couche la plus froide du profil correspond le plus souvent à la zone la plus active de la culture.

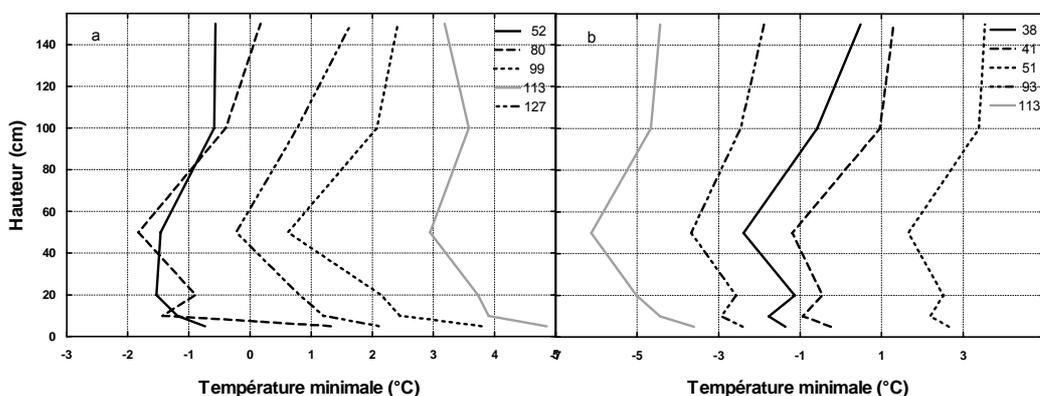


Figure 5-7 Profils verticaux de température minimale de l'air dans les parcelles (a : cycle 1, b : cycle 2). Les nombres et les courbes correspondent aux jours après émergence.

La figure 5-8 montre que les températures maximales de l'air ont été enregistrées à proximité immédiate du sol, ce qui s'explique par le rayonnement thermique important émis par les portions de la surface du sol qui se trouvent directement exposées au soleil.

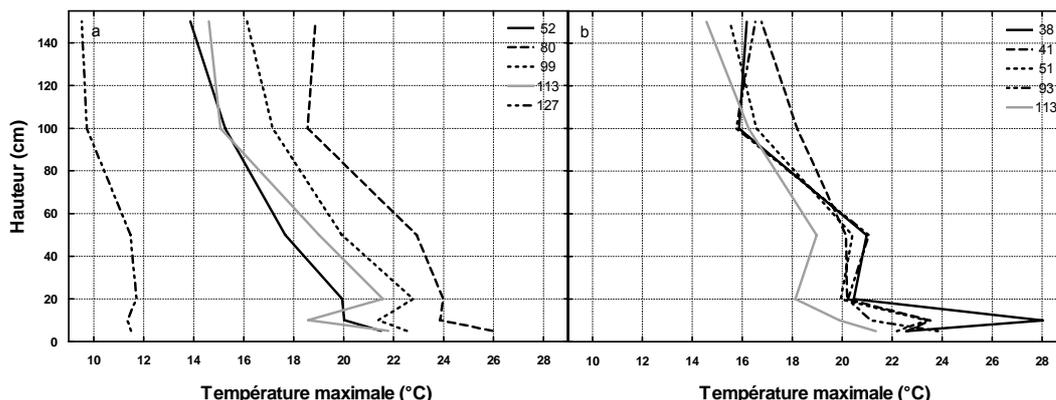


Figure 5-8 Profils verticaux de température maximale de l'air dans les parcelles (a : cycle 1, b : cycle 2). Les nombres et les courbes correspondent aux jours après émergence.

La température de l'air diminue ensuite jusqu'à à 0.1 m, zone où le couvert n'est constitué que de tiges dénudées se trouvant à l'ombre. À partir de 0.2 m, le couvert devient plus dense et ré-émet dans l'air proche l'énergie thermique reçue du sol ou celle produite par l'interception du rayonnement solaire par les feuilles : la température de l'air augmente alors ou reste stable. Plus haut, la température de l'air diminue à nouveau de façon plus ou moins continue, la différence entre le sol et 1.5 m (niveau de mesure des données météorologiques standards) atteignant alors fréquemment 6 à 7 °C (Figure 5-8).

5.5.3.2 Température foliaire minimale vs. hauteur de la plante

L'analyse de la relation entre température foliaire minimale journalière et hauteur des la plante a été réalisée pour chaque variété et pour chaque cycle agricole.

Premier cycle de culture

Surumi (Figure 5-9) : une corrélation entre température des feuilles et hauteur des plantes n'est apparue qu'à 60 JAE. L'absence de corrélation significative pour les autres dates était essentiellement due à la faible amplitude de hauteur des plantes : à 133 JAE, celle-ci ne variait que de 25 à 55 cm.

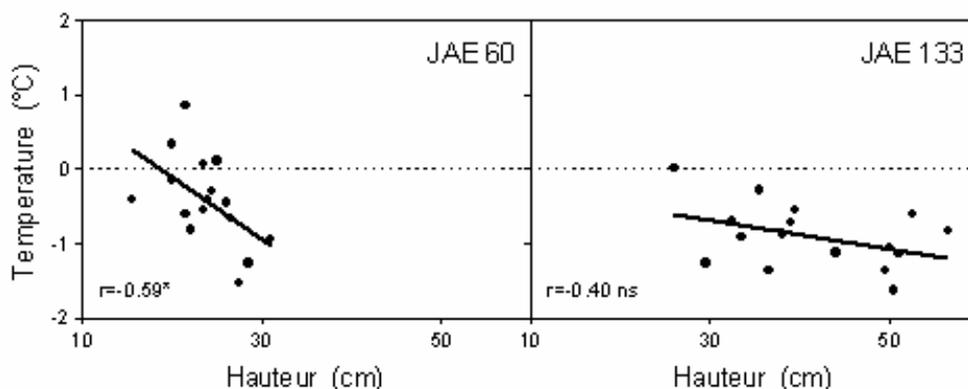


Figure 5-9 Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété Surumi aux JAE 60 et 133 du premier cycle de culture.

Blanca (Figure 5-10) : en début de cycle (JAE 52 à 60), une corrélation significative a été observée pour la même date que pour la variété Surumi, au JAE 60.

Puis, avec l'augmentation de l'hétérogénéité entre plantes, les corrélations Tmin-Hauteur sont devenues fréquemment significatives (JAE 81, 89, 90, 111, 127, 128, 152, 154, 155 et 157). Il est important de noter que ces corrélations sont apparues souvent plusieurs jours consécutifs, les grandes plantes subissant alors des températures foliaires inférieures de plus de 2 °C par rapport aux petites plantes.

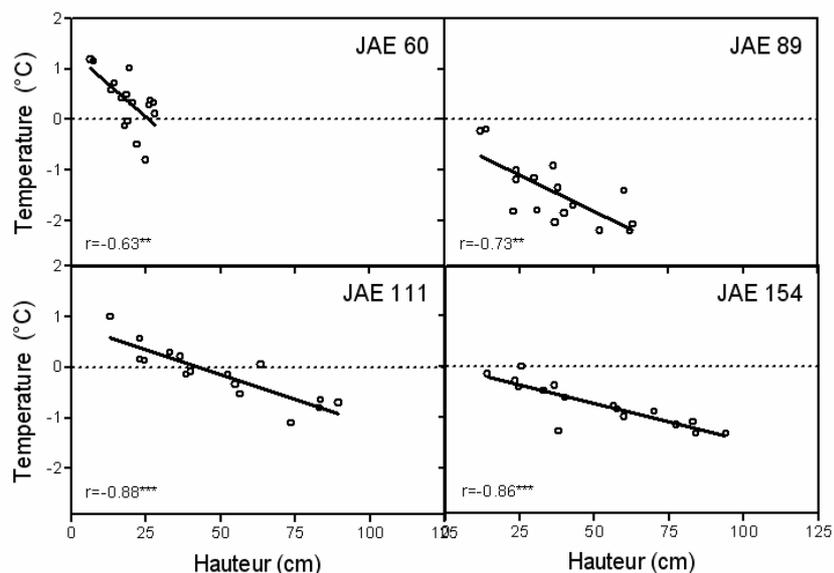


Figure 5-10 Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété Blanca aux JAE 60, 89, 111 et 154 du premier cycle de culture.

Deuxième cycle de culture

Surumi (Figure 5-11) : en début de cycle (JAE 37 à 51), aucune corrélation significative entre température foliaire minimale et hauteur des plantes (hauteur < 40 cm) n'a pas été observée. La croissance des plantes, l'augmentation de l'hétérogénéité du couvert et l'apparition de fortes gelées ont ensuite permis l'apparition de corrélations négatives entre ces deux variables (JAE 52, 65, 79, 86, 93 et 99). En fin de cycle de la culture, à partir du JAE 100 JAE, on n'a plus observé de corrélation, du fait de la sénescence des feuilles.

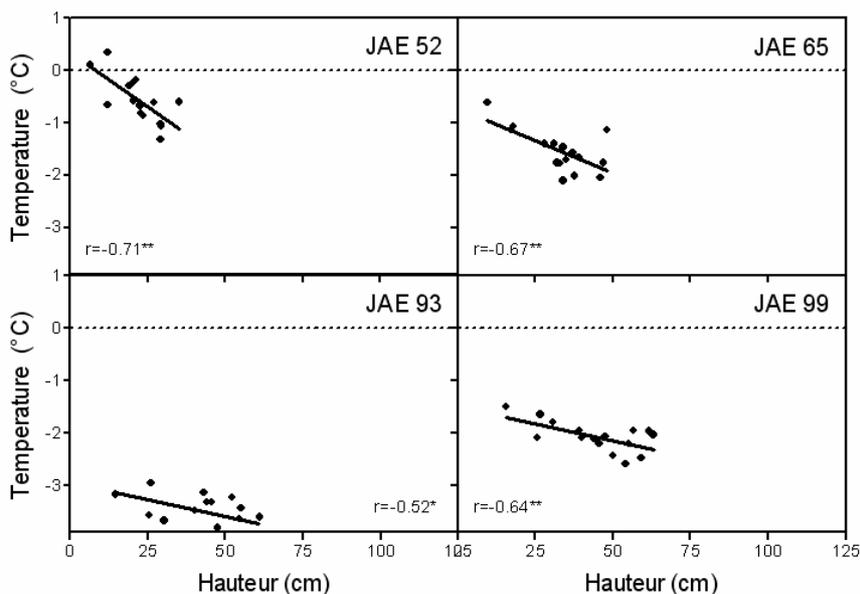


Figure 5-11 Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété *Surumi* aux JAE 52, 65, 93 et 99 du deuxième cycle de culture.

Blanca (Figure 5-12) : malgré un développement du couvert plus important que celui de la variété *Surumi*, une seule série de données (JAE 92) a pu montrer une corrélation statistiquement significative entre taille des plantes et température foliaire minimale chez la variété *Blanca*.

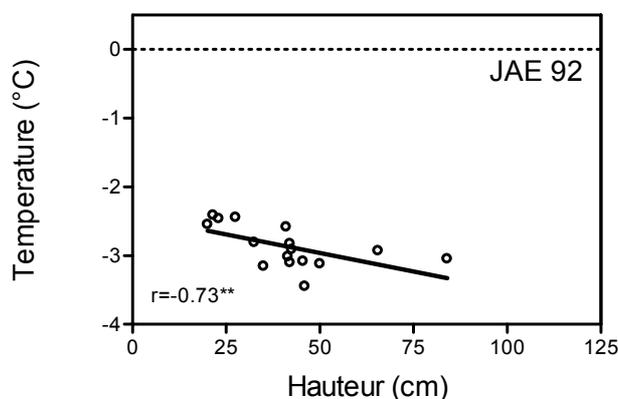


Figure 5-12 Relation entre hauteur des plantes et température foliaire minimale pour la variété *Blanca* au JAE 92 du deuxième cycle de culture.

5.5.4 Hétérogénéité de la croissance des plantes et de la production de graines

5.5.4.1 Hauteur de la plante

Premier cycle de culture

La croissance de la variété Surumi a été plus précoce avec une hauteur moyenne supérieure à celle de la variété Blanca jusqu'à 99 JAE. A cette date, la hauteur de la variété Surumi s'est stabilisée alors que Blanca a continué à croître jusqu'à 120 JAE (Figure 5-13). La différence de hauteur entre variétés était statistiquement significative tout au long du cycle de croissance. L'hétérogénéité de la hauteur était aussi beaucoup plus élevée pour la variété Blanca avec des écarts maxima entre plantes atteignant 56 cm à 80 JAE et 93 cm à 120 JAE, contre 40 cm environ aux mêmes dates chez Surumi.

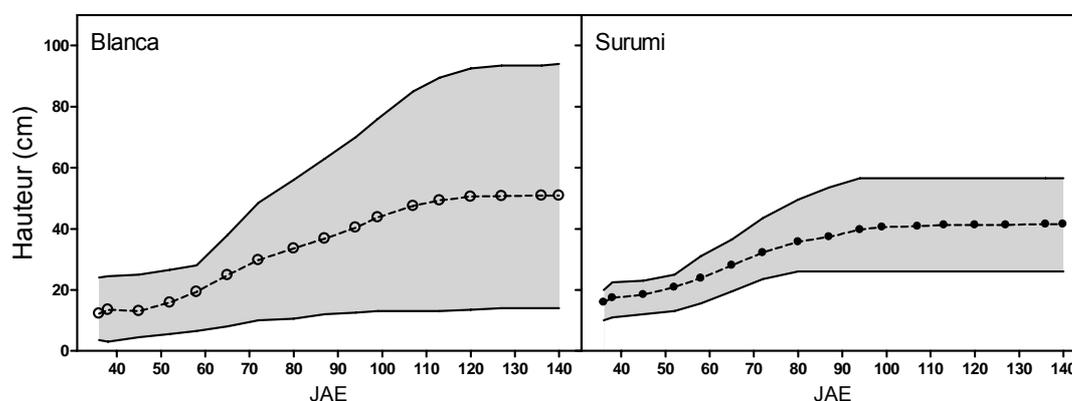


Figure 5-13 Évolution de la hauteur moyenne des plantes et de l'amplitude entre les hauteurs maximales et minimales au cours du cycle 2001-2002.

Tout au long du cycle de culture, la variété Blanca est celle qui a présenté le plus grand coefficient de variation (CV) pour la hauteur des plantes, enregistrant des valeurs entre 34 et 50% (Figure 5-14). Cette hétérogénéité peut s'expliquer par une seconde phase d'émergence de plantules, deux à trois semaines après la première émergence, probablement due à des différences dans la profondeur de semis et l'humidité du sol, et/ou à l'hétérogénéité des semences. Par la suite, les basses températures nocturnes et la grêle provoquèrent la mortalité de 45% des plantes précoces (issues de la première émergence). Pour la variété Surumi, la mortalité des plantes précoces fut moindre (25%).

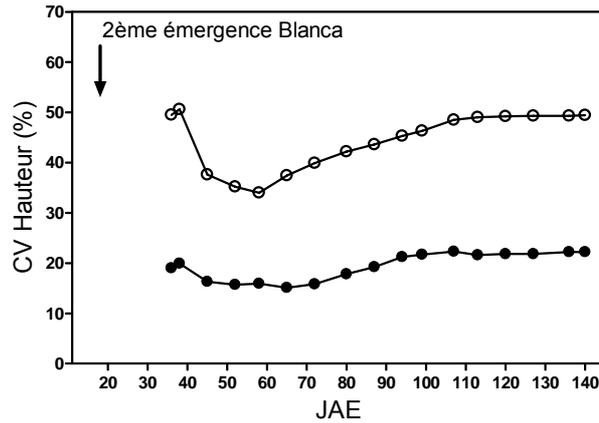


Figure 5-14 Évolution du coefficient de variation de la hauteur des plantes (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs) au cours du cycle 2001-2002.

Deuxième cycle de culture

La différenciation de croissance a commencé à 44 JAE pour les deux variétés (Figure 5-15). Comme pour le cycle 1, la variété Blanca a présenté une plus forte hétérogénéité avec des plantes atteignant une hauteur maximale de 93 cm à 100 JAE, contre 60 cm à la même date pour Surumi. La hauteur finale moyenne n'était cependant pas significativement différente entre les deux variétés.

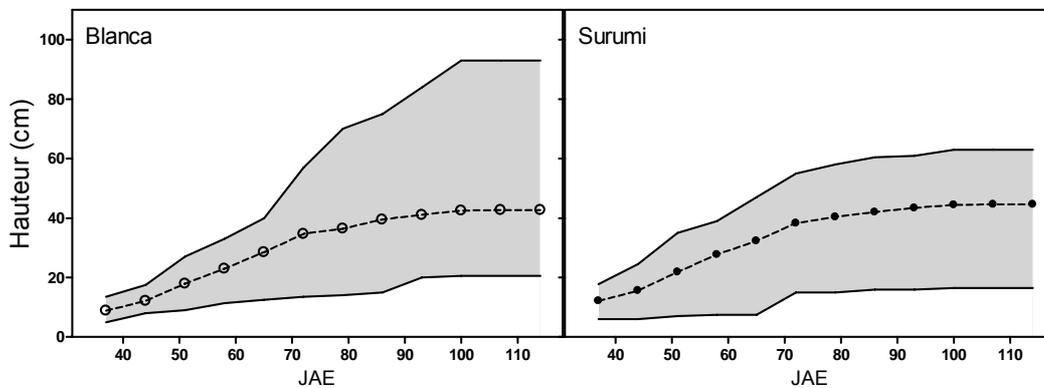


Figure 5-15 Évolution de la hauteur moyenne des plantes et de l'amplitude entre les hauteurs maximales et minimales au cours du cycle 2002-2003 (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs).

La plus grande hétérogénéité de la variété Blanca à partir du 72 JAE s'est traduit par un CV de l'ordre de 40%, contre 30% environ pour la variété Surumi (Figure 5-16).

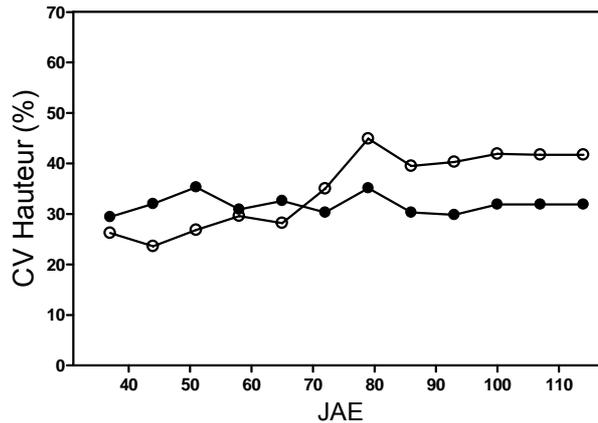


Figure 5-16 Évolution du coefficient de variation de la hauteur des plantes au cours du cycle 2002-2003 (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs).

5.5.4.2 Nombre de feuilles

La figure 5-17 présente les moyennes du nombre total de feuilles et les coefficients de variation correspondant à ces courbes de croissance lors du cycle 1 pour les deux variétés. L'effet des basses températures nocturnes est apparu à 35 JAE pour la variété Blanca, et seulement à 70 JAE pour la variété Surumi ; cet effet se manifestant par une interruption dans la production de feuilles pour la variété Surumi, et une diminution de ce processus pour la variété Blanca provoquant une différence significative du nombre de feuilles de 45 à 72 JAE. Cependant, les plantes des deux variétés ont montré le même nombre de feuilles en fin de cycle, soit 38 feuilles par plante. Les coefficients de variation indiquent la grande variabilité du nombre de feuilles particulièrement pour la variété Blanca, à cause de la seconde émergence. Le CV a augmenté légèrement en fin de cycle pour les deux variétés à cause de la sénescence et de la chute d'un certain nombre de feuilles.

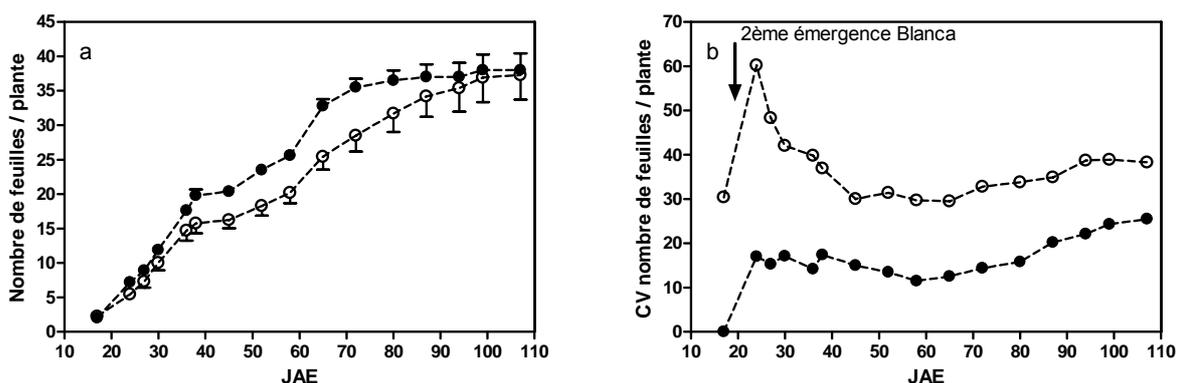


Figure 5-17 Moyenne (a) et coefficient de variation (b) du nombre de feuilles par plante au cours du premier cycle de culture (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs). Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 16).

La deuxième année de culture, le nombre moyen de feuilles le long du cycle a été le même pour les deux variétés (Figure 5-18). Cependant, comme lors du premier cycle, le coefficient de variation a été

généralement plus fort pour la variété Blanca reflétant une hétérogénéité de croissance plus importante pour cette variété.

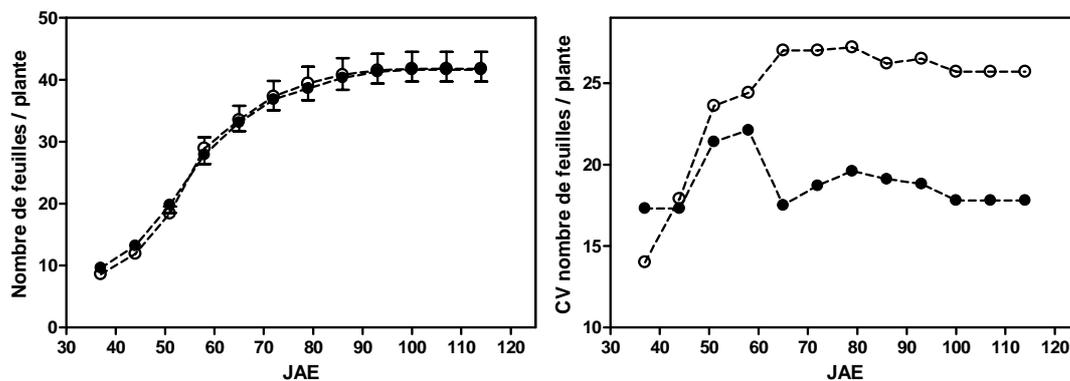


Figure 5-18 Moyenne (a) et coefficient de variation (b) du nombre de feuilles par plante au cours du second cycle de culture (Blanca : points blancs, Surumi : points noirs). Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 16).

5.5.4.3 Début et durée de la floraison

Le début et la durée de la floraison ont été observés durant le deuxième cycle de culture seulement. Les valeurs moyennes du début de floraison étaient significativement différentes pour les deux variétés ($F = 12.67$, $P = 0.0031$). Les variations de début et de durée de floraison entre plantes à l'intérieur d'une variété ont été très peu notables, phénomène reflété par les faibles écarts-types (Figure 5-19). Par ailleurs, les valeurs moyennes de la durée de floraison n'ont pas présenté de différence significative pour les deux variétés. Aucune corrélation significative entre le début ou la durée de la floraison et la taille des plantes n'a pu être mise en évidence, quelle que soit la variété considérée.

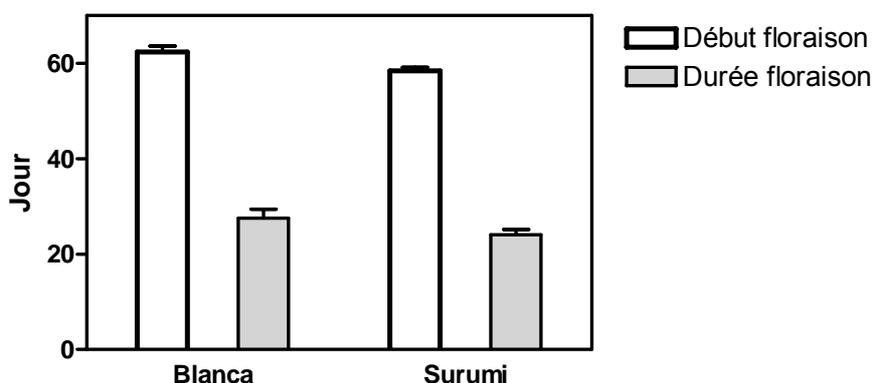


Figure 5-19 Début et durée de floraison des variétés Surumi et Blanca (les barres verticales représentent l'erreur standard, n = 16).

5.5.2.5 Relation entre croissance et production

La production totale de matière sèche aérienne a été significativement plus élevée pour la variété Blanca lors des deux cycles de culture (Figure 5-20). La production de la variété Surumi représentait respectivement 60.2 et 49.8% de celle de la variété Blanca pour les cycles 1 et 2.

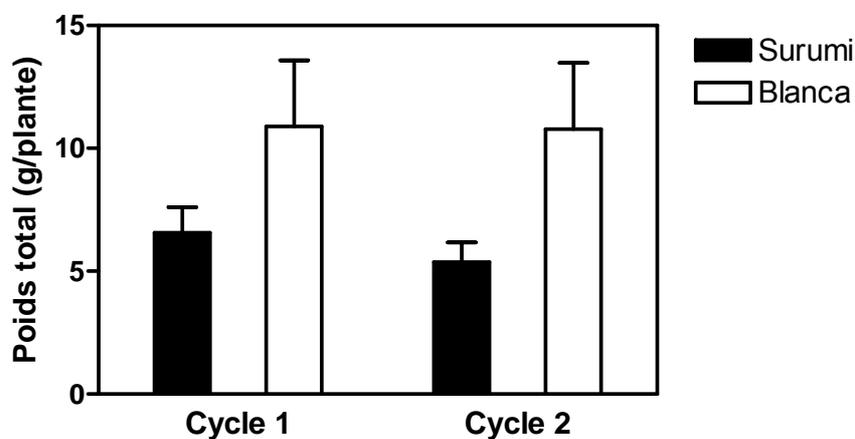


Figure 5-20 Biomasse aérienne totale (g de matière sèche par plante) pour les deux variétés et pour les deux cycles de culture (les barres verticales représentent l'erreur standard, n = 16)

Quel que soit le cycle de culture, l'indice de récolte défini comme le ratio du poids des graines sur le poids total de la panicule et de la tige (sans feuilles, pour limiter les variations dues à la sénescence et à la perte de feuilles plus ou moins avancées selon les individus) était significativement plus élevé pour la variété Blanca (Figure 5-21).

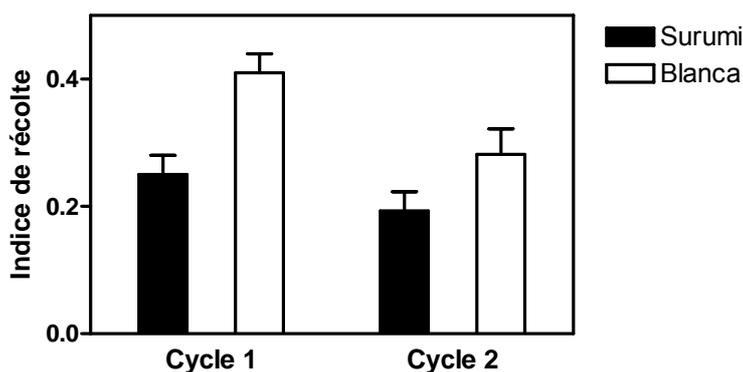


Figure 5-21 Indice de récolte pour les deux variétés et pour les deux cycles de culture (les barres verticales représentent l'erreur standard, n = 16).

La relation entre la croissance des plantes et la production a été étudiée au cours du premier cycle de culture en mettant en relation la hauteur des plantes avec le nombre de feuilles, la production totale de matière sèche aérienne et la production de graines (Figure 5-22).

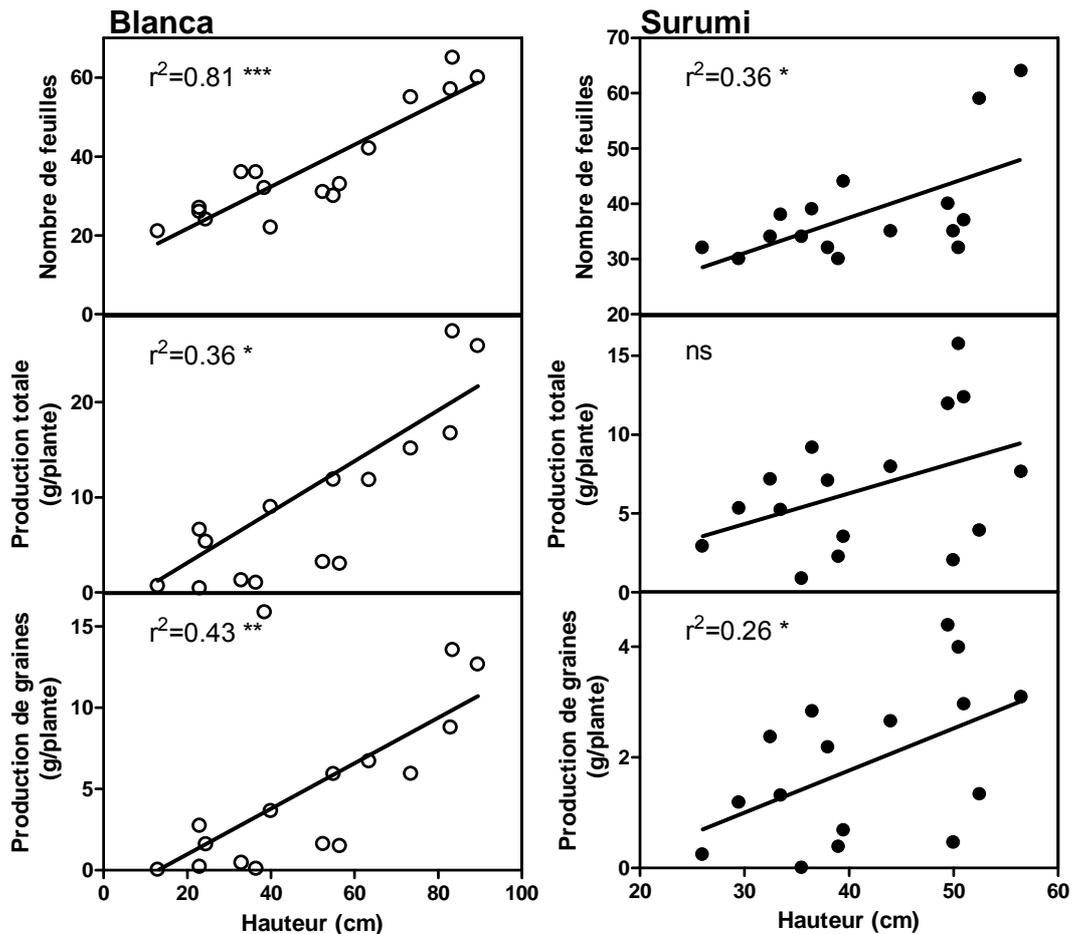


Figure 5-22 Relation entre la hauteur des plantes et le nombre de feuilles, la biomasse aérienne totale et la production de graines pour les deux variétés au cours du premier cycle de culture (n = 16).

Quelle que soit la variable étudiée, les relations étaient toujours plus fortes pour la variété Blanca que pour la Surumi. Les coefficients de détermination étaient les plus élevés pour la relation hauteur des plantes / nombre de feuilles, puis pour la relation hauteur / production de graines. La régression entre hauteur et production totale était significative pour la variété Blanca uniquement.

5.6 Discussion et conclusion

5.6.1 Gradients de température à l'intérieur du couvert

La compréhension des processus thermiques au sein des cultures discontinues (celles où l'espacement des plantes est du même ordre de grandeur que la hauteur du couvert) est souvent limitée à cause d'une absence de données sur la variabilité spatiale et temporelle de la structure du couvert et des températures de l'air et des plantes (Mihailovic & Eitzinger 2007). Nos essais ont permis, pour la première fois, d'enregistrer simultanément les gradients thermiques existant dans l'air

et sur les plantes au sein d'un couvert de quinoa in situ. Bien qu'il s'agisse d'un couvert très discontinu et d'une hauteur modeste, en comparaison d'autres cultures plus denses (p.ex. blé, riz) ou plus hautes (p.ex. maïs), des gradients thermiques significatifs s'y développent dans l'air et sur le feuillage, aussi bien de jour que de nuit : dans l'air en milieu de journée, la différence de température entre le niveau du sol (0.05m) et le niveau de référence météorologique (1.5 m) s'est élevée jusqu'à 7 °C ; et en fin de nuit le gain de température foliaire des plantes les moins hautes par rapport aux plantes les plus exposées a pu atteindre 2 °C. Sur le feuillage, les gradients importants ont été observés sous deux conditions : a) un couvert végétal hétérogène et suffisamment développé en hauteur, et b) des nuits claires et calmes pendant lesquelles l'absence de vent limite la convection turbulente et favorise la stratification des températures à l'intérieur du couvert. Cette double stratification de la structure du couvert et de l'air nocturne produit un effet d'abri des plantes les plus petites par les plantes les plus hautes. L'écart thermique qui en résulte est suffisant pour éviter le gel des feuilles dans un grand nombre de situations. Cet effet d'abri est d'une amplitude comparable au gain thermique apporté par les *suka kollus* ; ces systèmes andins de cultures sur canaux irrigués peuvent augmenter de près de 3 °C la température minimale de l'air lors des nuits les plus froides (Sanchez de Lozada *et al.* 1998). L'effet d'abri que nous avons observé est à peine inférieur à celui de 3 à 5 °C mesuré par Scowcroft *et al.* (2000), ainsi que dans des montagnes tropicales, mais sous un couvert arboré de 4 m de haut permettant une stratification plus importante de l'air et une meilleure rediffusion du rayonnement terrestre vers la surface. Sur le plan micrométéorologique, une culture de quinoa, monospécifique mais hétérogène en hauteur, peut ainsi être assimilée à un couvert plurispécifique dans lequel la structure multicouche de la végétation détermine une forte variabilité spatiale des conditions de température (Mihailovic & Eitzinger 2007).

5.6.2 Effet d'abri thermique et hétérogénéité de la croissance entre plantes

Une hétérogénéité significative de hauteur des plantes est, dans la situation météorologique de nuit calme et sans nuages, nécessaire à l'apparition de l'effet d'abri thermique. Nos observations montrent qu'en début de culture (lorsque la hauteur du couvert est encore limitée), ou chez la variété Surumi (dont les plantes sont de hauteurs assez homogènes) les gradients thermiques sont négligeables. L'effet d'abri se développe donc au fur et à mesure que les plantes poussent en hauteur :

- il est négligeable en début et en fin de cycle lorsque les gelées sont fréquentes mais que les plantes sont résistantes parce que juvéniles (Monteros & Jacobsen 1999), ou indifférentes parce que déjà sénescentes ;
- il est maximum en milieu de cycle, lorsque les risques de gelées sont statistiquement minimales mais que la sensibilité des plantes au froid est la plus grande (Limachi 1992).

Cet effet aurait ainsi une valeur adaptative vis-à-vis de l'imprévisibilité du climat andin, protégeant une partie de la population de plantes d'une même parcelle contre l'impact d'épisodes froids qui, comme nous l'avons observé, surviennent même en milieu d'été et souvent par séries de plusieurs nuits consécutives.

L'effet d'abri repose entièrement sur l'existence d'une forte hétérogénéité des individus au sein des populations, un trait qui caractérise les variétés locales traditionnelles, alors que les variétés de quinoa améliorées (d'ailleurs rarement sélectionnées sur le critère de tolérance au froid) ont un phénotype plus homogène, comme l'illustre la comparaison des variétés Surumi et Blanca de Yanamuyu. Les coefficients de variation de la hauteur des plantes ou du nombre de feuilles de la variété Surumi étaient toujours inférieurs à ceux de Blanca. Les valeurs de ces coefficients dans les deux variétés sont du même ordre de grandeur que ceux de hauteur des tiges ou de surface foliaire donnés par Bhargava *et al.* (2007a, b et Rojas *et al.* (2000), cependant pour des comparaisons inter-populations (nous ne disposons pas de références de variabilité intra-population).

L'analyse des relations entre la hauteur des plantes et différents traits liés à la production de biomasse aérienne suggère pourtant des limites à l'intérêt adaptatif de l'hétérogénéité de taille des plantes au sein des parcelles de quinoa. En effet, toutes les relations testées sont positives, et les plantes les plus petites, même mieux protégées des basses températures, restent aussi les moins productives. On pourrait donc faire l'hypothèse que l'hétérogénéité de taille des plantes est un caractère peu favorable à la maximisation de la production des parcelles de quinoa. Cependant, dans un environnement fortement contraignant et imprévisible comme l'Altiplano, avec des risques de gelées présents tout au long du cycle de culture, l'effet protecteur lié à cette hétérogénéité des plantes en fait une propriété du couvert qui assure, par la survie des plantes les plus basses, une production minimale même en cas de fortes gelées. Nos essais montrent d'ailleurs que l'hétérogénéité inter-individuelle de la variété locale n'empêche pas des performances globales supérieures à celles de la variété améliorée en terme de production de biomasse et d'indice de récolte. Les agriculteurs andins ont certainement choisi à travers la sélection des populations locales de quinoa d'assurer chaque année une production suffisante de grains plutôt que de maximiser cette production par une homogénéisation des hauteurs et des rendements en conditions favorables. Comme Zimmerer (1998) l'a remarqué dans le cas de la pomme de terre, autre culture originaire des Andes, la grande variabilité inter- et intra-annuelle du climat fait qu'il ne serait pas judicieux de chercher à sélectionner des variétés de quinoa adaptées à des conditions climatiques moyennes qui n'ayant qu'une faible probabilité d'occurrence dans l'Altiplano bolivien.

CHAPITRE 6
CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif principal du travail exposé ici était de mieux comprendre les relations entre biodiversité et stabilité de fonctionnement d'un écosystème soumis à de fortes contraintes environnementales. Cette question, discutée en écologie générale depuis plusieurs décennies (e.g. Holling 1973), a pris récemment une ampleur particulière dans les régions tropicales exposées à une crise écologique grave liée aux changements rapides du climat et de l'usage des terres (Keys & McConnell 2005). La problématique initiale s'est alors accrue à cause des notions de services des écosystèmes, et de gestion durable des ressources naturelles. L'étude de l'écogéographie de la quinoa sur l'Altiplano bolivien permet d'aborder ces différentes dimensions puisque, depuis des millénaires, cette chénopodiacee s'est diversifiée et s'est maintenue avec vigueur sur les hauts plateaux andins malgré les contraintes rudes et les aléas du climat. Le choix d'une espèce cultivée et d'un système anthropisé donne un cadre conceptuel particulier à notre travail : la biodiversité devient agrobiodiversité, l'écosystème un agro-écosystème. Les interventions humaines y occupent une place essentielle, depuis la domestication par les premiers agriculteurs jusqu'aux pratiques de culture des exploitants/exportateurs actuels. Cependant, sur l'altiplano bolivien comme dans la plupart des systèmes vivriers tropicaux, ces interventions restent largement subordonnées aux facteurs naturels : ni fertilisation chimique, ni irrigation, ni assurances ne viennent compenser la pauvreté du sol, la sécheresse, ou les dommages occasionnés par le gel et la grêle. Dans ce contexte, l'hypothèse d'un lien étroit entre biodiversité agricole et stabilité du fonctionnement de l'agro-écosystème reste donc pertinente.

Pour examiner cette problématique, nous avons cherché à intégrer la biologie des individus et celle des populations, en considérant explicitement les perturbations du climat et les interventions humaines. Des disciplines aussi différentes que la génétique et l'écophysiologie, la climatologie et l'agronomie ont été mobilisées. Par ailleurs, la complexité des relations en jeu nous a fait choisir une démarche hiérarchique allant de la région à la parcelle, de la métapopulation à l'individu. Sans prétendre dominer pleinement toutes ces disciplines, nous nous sommes attachés à relier les connaissances apportées par chacune d'elles. Nos avancées disciplinaires sur la génétique ou la physiologie de la quinoa sont nécessairement limitées. En revanche, notre apport principal se trouve dans une tentative d'"écologie fonctionnelle des populations", la première à notre connaissance sur la quinoa, et encore l'une des rares concernant une espèce cultivée (mais voir p.ex. Rieseberg *et al.* 2003, sur le tournesol). La diversité moléculaire de la quinoa a été pour la première fois caractérisée au niveau intra-population, et comparée à la diversité existant entre populations à l'échelle de l'altiplano entier (chapitre 3). Parallèlement, l'hétérogénéité phénotypique a été étudiée au champ sous l'angle de son intérêt pour la tolérance au stress majeur que représentent les gelées nocturnes (chapitre 5). Auparavant, la structure hiérarchique de cette diversité phénotypique a été analysée au sein de sept populations représentatives de l'altiplano (chapitre 4). Les résultats obtenus sont synthétisés dans les paragraphes suivants.

Des écotypes différenciés à l'échelle régionale

Notre étude a montré que la quinoa possède à la fois une structure populationnelle forte et une variation intra-population élevée. La structure génétique des populations de quinoa en Bolivie a un

caractère nettement écogéographique s'exprimant tant au niveau moléculaire que phénotypique. Au niveau moléculaire, la structuration géographique s'explique par un isolement des populations vraisemblablement lié aux barrières climatiques et orographiques présentes dans la zone étudiée. Cette structure géographique des populations correspond à une distribution spatiale nettement régionale, faisant contraster des ensembles géographiques aussi étendus que l'Altiplano nord et central, l'Altiplano sud et les vallées inter-andines. Elle recoupe les classifications établies depuis plusieurs décennies (Wilson 1988bc, Cardenas 1969). Au sein de ces grands groupes, les caractères moléculaires restent similaires malgré les différences d'altitude (p.ex. populations *cig* et *njo* de l'altiplano nord) ou de taxons (quinoas cultivées et spontanées), ce qui suggère que la distribution des populations n'est pas strictement locale, et que des échanges génétiques importants existent entre elles. Ce brassage moléculaire à l'échelle régionale est vraisemblablement entretenu par le taux non négligeable de fécondation croisée et la présence de formes sauvages à proximité ou au sein des parcelles cultivées. Des échanges directs de semences entre agriculteurs y contribuent aussi, mais avec des modalités différentes selon les régions puisqu'ils paraissent plus fréquents dans l'altiplano nord et central que dans les autres régions. Pas plus que les travaux déjà anciens de Wilson (1988bc) ou de Cardenas (1969), notre étude, qui prend pourtant en compte la variation intra-population collectée *in situ*, n'indique de spécialisation des quinoas par rapport aux conditions locales du milieu. Les enquêtes réalisées auprès des agriculteurs ne suggèrent pas non plus ce genre d'adaptation étroite des variétés à des micro-habitats spécifiques : ce sont des critères d'usage alimentaire, commercial ou social des quinoas qui sont mis en avant pour justifier la diversité des variétés mises en culture.

Les traits de variation phénotypique ne montrent pas une structure populationnelle aussi nette que les marqueurs moléculaires. Ils rapprochent des quinoas très éloignées spatialement mais provenant de milieux similaires du point de vue écologique : soit difficiles pour l'agriculture, comme l'altiplano sud et les secteurs élevés de l'altiplano nord, soit au contraire plus favorables, comme les vallées inter-andines et les rives du lac Titicaca. Même si les conclusions sont limitées puisqu'une seule des populations étudiées provient de haute altitude, et une autre d'une vallée inter-andine, ces similitudes phénotypiques liées à l'environnement de culture semblent plaider pour une adaptation des populations à leur milieu. Mais là encore, il s'agit d'une distribution à spectre large ("*coarse grain distribution*"), qui différencie des contextes de culture extrêmes (tempérés vs arides et froids) : elle n'implique aucune spécialisation des populations par rapport à la nature du sol, à l'exposition ou à la pente du terrain, ni à un autre facteur strictement local. Sous cet angle, la quinoa ne se distinguerait donc pas d'autres espèces cultivées originaires des Andes, comme par exemple les pommes de terre étudiées en détail par Zimmerer (1998, 1999) : la diversité des populations de quinoa cultivées répond à des objectifs de sélection largement indépendants des conditions du milieu naturel local. Ce qui suppose, pour reprendre l'expression de Zimmerer (1998), une certaine versatilité écologique ("*ecological versatility*") permettant à ces populations de rester viables malgré l'imprévisibilité spatiale et temporelle du climat andin. Cet auteur suggère que la versatilité écologique des variétés locales est le résultat des pratiques de sélection et de culture des agriculteurs andins, et qu'elle se traduit dans les taxonomies paysannes par l'absence de différenciation entre plusieurs de ces variétés. Pour la

quinoa, les agriculteurs Boliviens regroupent sous l'unique dénomination de "*Quinoa Real*" 21 écotypes pourtant clairement discernables par leur couleur et la forme de leur panicule (Aroni *et al.* 2003). Ces écotypes, cultivés dans l'altiplano sud depuis l'époque précolombienne, ont vu récemment leur distribution spatiale changer considérablement et passer de parcelles cantonnées aux pentes du relief à de vastes superficies en plaine, sans problème d'adaptation à un habitat pourtant très différent. En revanche, ces mêmes écotypes du sud sont mal adaptés au nord de l'altiplano et aux vallées inter-andines du fait de leur sensibilité au mildiou, fréquent dans ces régions relativement plus humides. La diversité des écotypes de "*Quinoa Real*" semble donc bien correspondre à un contraste climatique marqué à une échelle régionale large, mais pas à une adaptation étroite aux différents microclimats de pente ou de plaine de l'altiplano sud.

Une variabilité intra-population avec un intérêt adaptatif face aux aléas du climat ?

Ces pratiques de sélection paysannes aboutissant à une distribution à spectre large de variétés écologiquement versatiles doivent elles affecter aussi le patron de variabilité à l'intérieur des populations de quinoa. De fait, le niveau intra-population concentre à lui seul environ 50% de la variation moléculaire totale, et souvent davantage pour la variation des traits phénotypiques. L'analyse de la variation phénotypique a montré que, pour plusieurs de ces traits, la variation inter-familles dominait la variation proprement inter-individuelle, ce qui suggère une héritabilité élevée. D'une façon générale, une variation intra-population élevée des traits quantitatifs indique une pression de sélection faible, laquelle peut résulter d'une variance environnementale importante. Dans l'Altiplano bolivien, où le climat joue un rôle majeur dans la variabilité du milieu, la variation phénotypique est apparue forte à l'intérieur des populations de quinoa provenant de régions tempérées mais exposées à des épisodes fréquents de sécheresse et de gelée. Elle était moindre dans les populations de quinoa issues des secteurs nettement arides et froids de l'altiplano sud, moins imprévisibles que les précédents. On peut donc avancer l'hypothèse que la diversité intra-population des quinoas de l'Altiplano bolivien serait déterminée à la fois par la fréquence des échanges génétiques, plus ou moins favorisés par les cultivateurs, et par la sélection sous l'effet de la variabilité temporelle du climat, les deux types de facteurs aboutissant à une variabilité plus forte au sein des populations de l'altiplano nord et central.

Cette variabilité intra-population de la quinoa présente-t-elle un avantage adaptatif face aux aléas climatiques qui caractérisent l'Altiplano bolivien ? Les expérimentations agrophysiologiques menées au champ ont mis en évidence le rôle protecteur de l'hétérogénéité de croissance des plantes de quinoa, en particulier lors des nuits les plus froides, lorsque l'absence de vent favorise la stratification des températures les plus basses à proximité de la surface du sol nu. La présence d'une couverture végétale limite alors les déperditions de chaleur vers l'atmosphère, et produit un effet d'abri avec un gain de température foliaire pour les plantes les plus petites pouvant atteindre 2 °C par rapport aux feuilles les plus exposées du couvert. Cet écart est suffisant pour éviter le gel des feuilles basses dans un grand nombre de situations. Cependant, les relations entre hauteur des plantes et production de biomasse aérienne montrent que les plantes les plus petites, même mieux protégées des basses températures, restent aussi les moins productives. L'hétérogénéité de taille des plantes au sein des parcelles de quinoa aurait donc un intérêt adaptatif limité. L'avantage paraît se situer à l'échelle de la

population entière puisque l'hétérogénéité inter-individuelle n'empêche pas des performances globales meilleures en terme de production de biomasse et notamment de grains, comme l'indique notre comparaison entre variété locale et variété améliorée. Une explication possible ici, et qui reste à approfondir, concerne le lien entre l'hétérogénéité de taille des plantes et l'asynchronie de leur phénologie au sein de la population : le décalage phénologique peut en effet permettre à une fraction du peuplement d'échapper aux accidents climatiques affectant des stades de développement précis. La validation de cette hypothèse passe par des observations répétées sur de nombreux cycles végétatifs successifs, ou par une modélisation détaillée de la phénologie des populations de plantes, deux approches hors de la portée du présent travail. À travers la sélection et le maintien de populations de quinoa hétérogènes, les agriculteurs andins ont certainement choisi d'assurer chaque année une production de grains suffisante plutôt que tenter d'homogénéiser leurs variétés pour maximiser les rendements en conditions favorables.

BIBLIOGRAPHIE

- Aarssen, L.W., 1997. On the progress of ecology. *Oikos*, 80: 177-178.
- Alegria, S., Espindola, G., Jacobsen S.E., 1999. Fertilización nitrogenada de la quinua en dos épocas y dos espaciamientos de siembra en el Altiplano. In: Jacobsen, S.E., and A. Mujica, (Eds). 1999. Primer curso internacional sobre fisiología de la resistencia a sequía en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Lima, Perú : CIP-CGIAR (Centro Internacional de la Papa).
- Altieri, M.A., 2002. Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 93: 1-24.
- Annicchiarico, A. & Mariani, G., 1996. Prediction of adaptability and yield stability of durum wheat genotypes from yield response in normal and artificially drought-stressed conditions. *Field Crops Research*, 46: 71-80.
- Arnholdt-Schmitt, B., 2005. Functional markers and a "systemic strategy": convergency between plant breeding, plant nutrition and molecular biology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43: 817-820.
- Aroni, J.C., Aroni, G., Quispe, R., Bonifacio, A., 2003. Carálogo de quinua real. Fundación McKnight, Fundación PROINPA, MACIA-SINARGEAA. La Paz, Bolivia. 51 p.
- Auza, J.I., 2003. Curvas de crecimiento de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y avena (*Avena sativa*) en condiciones diferenciadas de alimentación hídrica y nutrición nitrogenada en la Estación de Choquenaira. Tesis Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. 81 p.
- Ayala, G., Ortega, L., Moron, C., 2001. Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): Valor nutritivo y usos de la quinua. In: Izquierdo Fernández, J.I., Mujica, A., Jacobsen, S.E., Marathée, J.P., Morón, C. (Eds.). *Cultivos Andinos, versión 1.0.* (CD-Rom). Santiago, Chile: FAO.
- Bajracharya, J., Steele, K.A., Jarvis, D.I., Sthapit, B.R., Witcombe, J.R., 2006. Rice landrace diversity in Nepal: variability of agro-morphological traits and SSR markers in landraces from a high-altitude site. *Field Crops Research*, 95: 327-335.
- Banque Mondiale, 1999. World development, indicators. Washington, D.C., The World Bank.
- Barbault, R., 1995. Écologie des peuplements : structure et dynamique de la biodiversité. Masson. Paris, France. 273 p
- Bardsley, D., 2003. Risk alleviation via in situ agrobiodiversity conservation: drawing from experiences in Switzerland, Turkey and Nepal. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 99: 149-157.
- Bar-Hen, A., Charcosset, A., Bourgoïn, M., Guiard, J., 1995 Relationship between genetic markers and morphological traits in a maize inbred lines collection. *Euphytica*, 84: 145-154.
- Bauert, M.R., Kálin, M., Baltisberger, M., Edwards, P.J., 1998. No genetic variation detected within isolated relict populations of *Saxifraga cernua* in the Alps using RAPD markers. *Molecular Ecology*, 7: 1519-1527.

- Becerra, V. & Paredes, C., 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica (Chile)*, 60, 3: 270-281.
- Bellon, M.R., 1996. The dynamics of crop intraspecific diversity: A conceptual frame work at the farmer level. *Economic Botany*, 50: 26-39.
- Benton, T.G., Vickery, J.A., Wilson, J.D., 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 182-188.
- Bertero, H.D., 2003. Response of developmental processes to temperature and photoperiod in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Reviews International*, 19: 87-97.
- Bertero, H.D., King, R.W., Hall, A.J., 1999a. Photoperiod-sensitive development phases in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field Crops Research*, 60: 231-243.
- Bertero, H.D., King, R.W., Hall, A.J., 1999b. Modelling photoperiod and temperature responses of flowering in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field Crops Research*, 63: 19-34.
- Bertero, H.D., 2001. Effects of photoperiod, temperature and radiation on the rate of leaf appearance in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under field conditions. *Annals of Botany*, 87: 495-502.
- Bertero, H.D., Medan, D., Hall, A.J., 1996. Changes in apical morphology during floral initiation and reproductive development in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Annals of Botany*, 78: 317-324.
- Bhargava, A., Shukla, S., Ohri, D., 2006. *Chenopodium quinoa*: an Indian perspective. *Industrial Crops and Products*, 23: 73-87.
- Bhargava, A., Shukla, S., Ohri, D. 2007a. Genetic variability and interrelationship among various morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field Crops Research*, 101: 104-116.
- Bhargava, A., Shukla, S., Rajan, S., Ohri, D., 2007b. Genetic diversity for morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 167-173.
- Birhuet, G., 1992. La Economía campesina en la micro región de Caquiaviri y Comanche, Provincia Pacajes. Ed. Labor, SEMTA, La Paz, Bolivia. pp. 117-155.
- Bizoux, J.P., 2002. Etude génétique de peuplements belges de *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. et de *Quercus robur* L. à l'aide de marqueurs moléculaires du type Rapd. Mémoire de fin d'étude – Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux. Gembloux, Belgique. 78 p.
- Bizoux, J.P., 2003. Etude génétique de *Viola Calaminaria* (DC) Lej. à l'aide de marqueurs moléculaires du type Rapd. Mémoire du Diplôme d'Études Approfondis – Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux. Gembloux, Belgique. 78 p.
- Black-Samuelsson, S., Eriksson, G., Gustafsson, L., Gustafsson, P., 1997. RAPD and morphological analysis of the rare plant species *Vicia pisiformis* (Fabaceae). *Biological Journal of the Society*, 61: 325-343.

- Bois, J.F., Winkel, T., Lhomme, J.P., Raffaillac, J.P., Rocheteau, A., 2006. Response of some Andean cultivars of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to temperature: effects on germination, phenology, growth and freezing. *European Journal of Agronomy*, 25: 299-308.
- Bonifacio, A., 1992a. Herencia mendeliana en la quinua. In: Actas del VII congreso internacional sobre cultivos andinos 4-8 Feb. 1992. Morales D. & Vacher J.J. (Eds.). ORSTOM. La Paz, Bolivia. pp. 11-13.
- Bonifacio, A., 1992b. Interacción génica en *Chenopodium quinoa* Willd. In: Actas del VII congreso internacional sobre cultivos andinos 4-8 Feb. 1992. Morales D. & Vacher J.J. (Eds.). ORSTOM. La Paz, Bolivia. pp. 15-18.
- Bonifacio, A., 1997. Mejoramiento de la quinua para resistencia a factores adversos en Bolivia. In: Primer Taller de PREDUZA en resistencia duradera en cultivos altos en la zona andina. D. Danial (Ed.) Proyecto de Resistencia Duradera en la Zona Andina, PREDUZA. Quito, Ecuador. pp. 75-78.
- Bonifacio, A. 1999. Recursos genéticos, etnobotánica y distribución geográfica. In: Jacobsen *et al.* (Eds). Recursos genéticos y sistemas de producción. Primer taller internacional sobre quinua. Lima, Perú. pp.11-12.
- Bonifacio, A., 2001. Recursos genéticos, etnobotánica y distribución geográfica. In: *Primer taller internacional sobre quinua*. Mujica, A., Jacobsen, S.E., Izquierdo, J., Marathe, J.P. (Eds.), 2001. Cultivos Andinos. CD-ROM contiene 13 libros. FAO. UNA-Puno, CIP. Santiago, Chile.
- Bonifacio, A., Mujica, A., Alvarez, A., Roca, W., 2001. Mejoramiento genético, germoplasma y producción de semilla. In: *Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.): ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro*. Mujica, A., Jacobsen, S.E., Izquierdo J. I., Marathée, J. P. (Eds.). FAO, Santiago, Chile.
- Bosque, S.H., Lemeur, R., Van Damme, P., Jacobsen, S.E., 2003. Ecophysiological analysis of drought and salinity stress of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Reviews International*, 19: 111-119.
- Brack Egg, A., 2003. *Perú: diez mil años de domesticación*. Lima, Perú : Editorial Bruño.
- Bradshaw, A.D., 2006. Unravelling phenotypic plasticity: why should we bother?. *New Phytologist*, 170: 664-648
- Bruno, M. & Whitehead, W., 2003. Chenopodium Cultivation and Formative Period Agriculture at Chiripa, Bolivia. *Latin American Antiquity*, 14: 339-355.
- Brush, S.B., 1998. Crop diversity in mountain areas and conservation strategy. *Revue de Géographie Alpine*, 4: 115-130.
- Burel, F., 1992. Utilisation de l'Analyse Multivariée pour détecter des niveaux d'organisation écologique dans un paysage. In : *Hiérarchies et échelles en écologie*. Auger, P.; Baudry, J.; Fournier, F. (Eds.). Naturalia Publications. Paris, France. 300 p.

- Burstin, J. & Charcosset, A., 1997. Relationship between phenotypic and marker distances: theoretical and experimental investigations. *Heredity*, 79: 477-483.
- Cabido, M., Ateca, N., Astegiano, M., Antón, A., 1997. Distribution of C3 and C4 grasses along an altitudinal gradient in Central Argentina. *Journal of Biogeography*, 24: 197-204.
- Cáceres, E., 1993. Cultivos Andinos. Impreso Felipe Moya. Oruro, Bolivia. 126 p.
- Caillon, S., Quero-García, J., Lescure, J.P., Lebot, V., 2006. Nature of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genetic diversity prevalent in a Pacific Ocean island, Vanua Lava, Vanuatu. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 1273-1289.
- Canahua, A., 1992. Respuesta de los cultivos andinos a perturbaciones climáticas: caso del Altiplano de Puno, Perú. In: Actas del VII congreso internacional sobre cultivos andinos 4-8 Feb. 1992. Morales D. & Vacher J.J. (Eds.). ORSTOM. La Paz, Bolivia. pp. 297-301.
- Canahua, A. & Rea, J., 1979. Quinuas resistentes a heladas. In: II Congreso Internacional de Cultivos Andinos, junio 4-8. IICA. Riobamba, Ecuador. pp. 14-35.
- Canahua Murillo, A., Mujica, A.S., Apaza, V., Quispe, M., 2004. *Revaloración de quinuas de color (Chenopodium quinoa Willd.) en el altiplano de Puno, Perú: experiencias y perspectivas*. CD-Rom : XI Congreso Internacional de Cultivos Andinos, Fundación PROINPA, Cochabamba, Bolivia, Cochabamba, Bolivia.
- Cárdenas, M., 1944. Descripción preliminar de variedades de *Chenopodium quinoa* de Bolivia. *Revista de Agricultura* (Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia), 2: 13-26.
- Cárdenas, M., 1969. Manual de plantas económicas de Bolivia. Editorial Los Amigos del Libro. 2^{da} Edición. Cochabamba, Bolivia. pp. 82-83.
- Carvajal-Rodríguez, A., Rolán-Alvarez, E., Caballero, A., 2005. Quantitative variation as a tool for detecting human-induced impacts on genetic diversity. *Biological Conservation*, 124: 1-13.
- Catacora, P. & Canahua, A., 1992. Selección de genotipos de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) resistentes a heladas y perspectivas de producción en camellones. In: Actas del VII congreso internacional sobre cultivos andinos 4-8 Feb. 1992. Morales D. & Vacher J.J. (Eds.). ORSTOM. La Paz, Bolivia. pp. 53-56.
- Catacora, G.A., 1977. *Determinación del cariotipo de cinco líneas de quinua (Chenopodium quinoa Willd.)*. Tesis Ing. Agr., Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Ceccarelli, S., 1989. Wide Adaptation: how wide?; *Euphytica*, 40: 197-205.
- Chapin, F.S., Zavaleta, E.S., Eviner, V.T., Naylor, R.L., Vitousek, P.M., Reynolds, H.L., Hooper, D.U., Lavorel, S., Sala, O.E., Hobbie, S.E., Mack, M.C., Diaz, S., 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405: 234-242.
- Chapin, F.S., Sala, O.E., Burke, I.C., Grime, J.P., Hooper, D.U., Lauenroth, W.K., Lombard, A., Mooney, H.A., Mosier, A.R., Naeem, S., Pacala, S.W., Roy, J., Steffen, W.L., Tilman, D., 1998. Ecosystem consequences of changing biodiversity. *Bioscience*, 48: 45-52.

- Chauhan, G.S., Eskin, N.A.M., Tkachuk, R., 1992. Nutrients and antinutrients in quinoa seed. *Cereal Chemistry*, 69: 85-88.
- Chloupek, O., Hrstkova, P., Schweigert, P., 2004. Yield and its stability, crop diversity, adaptability and response to climate change, weather and fertilisation over 75 years in the Czech Republic in comparison to some European countries. *Field Crops Research*, 85: 167-190.
- Choquecallata, J., Vacher, J.J., Fellman, T., Imaña, E., 1991. Evapotranspiración máxima del cultivo de la quinoa por lisimetría y su relación con la evapotranspiración potencial en el Altiplano Boliviano. In: Actas del VII Congreso internacional sobre cultivos andinos. IBTA/ORSTOM/CIID CANADA. La Paz, Bolivia. pp. 63-67.
- Claros, G.M. & Quesada, A.R., 2000. PCR as a specific, sensitive and simple method suitable for diagnostics. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 28: 223-226.
- Conway, G.R., 1987. The properties of agroecosystems. *Agricultural Systems*, 24: 95-117.
- Crisci, J.V. & López, M.F., 1983. *Introducción a la teoría y practica de la taxonomía numérica*. Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de desarrollo Científico y Tecnológico. Washinton, D.C.. 129 p.
- Crutsinger, G.M., Collins, M.D., Fordyce, J.A., Gompert, Z., Nice, C.C., Sanders, N.J., 2006. Plant genotypic diversity predicts community structure and governs an ecosystem process. *Science*, 313: 966-968.
- Danielsen, S. & Ames, T., 2000. El mildiu (*Peronospora farinosa*) de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en la zona andina. CIP, KVL and RDMFA (Eds.). Lima, Perú. 32 p.
- De Rouw, A. & Winkel, T., 1998. Drought avoidance by asynchronous flowering in pearl millet stands cultivated on-farm and on-station in Niger. *Experimental Agriculture*, 34: 19-39.
- De Steenhuijsen Piters, B., 1995. Diversity of fields and farmers: explaining yield variation in northern Cameroon. Ph. D. Thesis Wageningen, the Netherlands, Wageningen Agricultural University. 227 p.
- De Vienne D., 1998. Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. INRA, Paris, France. 200 p.
- Del Castillo, C., Winkel, T., Mahy, G., Bizoux, J.P., 2007. Genetic structure of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from the Bolivian altiplano as revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 897-905.
- Demey, J.R., Zambrano, A.Y., Fuenmayor, F., Segovia, V., 2003. Relación entre caracterizaciones molecular y morfológicas en una colección de yuca. *Interciencia*, 28: 684-689.
- Dini, I., Tenore, G.C., Dini, A., 2004. Phenolic constituents of *Kancolla* seeds. *Food Chemistry*, 84: 163-168.
- Dizès, J., 1992. Comportement hydrique de quatre variétés de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en conditions de culture irriguée et de culture sèche. ORSTOM. La Paz, Bolivia. 18 p.

- Dizès, J. & Bonifacio, A., 1992. Estudio en microscopia electrónica de la morfología de los órganos de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y de la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* A.) en relación con la resistencia a la sequía. In: Actas del VII Congreso Internacional sobre Cultivos Andinos. IBTA/ORSTOM/CIID Canada. La Paz, Bolivia. pp. 69-74.
- Djé, Y., Forcioli, D., Ater, M., Lefèbvre, C., Vekemans, X., 1999. Assessing population genetic structure of sorghum landraces from north-western Morocco using allozyme and microstallite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 157-163.
- Doebley, J.F., Goodman, M.M., Stuber, C.W., 1985. Isozyme variation in the races of maize from Mexico. *American Journal of Botany*, 72: 629-639.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Du Portal, D., 1993. Études des gelées sur l'Altiplano bolivien. Mémoire de DEA. ENSA-M, Montpellier, France. 41 p.
- Duelli, P., Obrist, M. K., Schmatz, D. R., 1999. Biodiversity evaluation in agricultural landscapes: above-ground insects. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 74: 33-64.
- Edwards, K., Johnstone, C., Thompson, C., 1991. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Research*, 19: 1349.
- Engels, J.M.M. & Wood, D., 1999. Conservation of agrobiodiversity In: Agrobiodiversity: characterization, utilization and management. Wood, D. Lenné, J.M. (Eds.) CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 355-385.
- Espindola, G., 1980. Estudio de componentes directos e indirectos del rendimiento en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Tesis de grado, Universidad Boliviana Mayor de San Simón. Cochabamba, Bolivia. 91 p.
- Espíndola, G., 1986. Respuestas fisiológicas, morfológicas y agronómicas de la quinoa al déficit hídrico. M.Sc. Tesis. Colegio de Post-graduados. Chapingo, México. 100 p.
- Espíndola, G., 1992. Proyecto de fortalecimiento y modernización. IBTA-BM. In: *Informe anual 1992. Programa quinoa*. Estación Experimental de Patacamaya. La Paz, Bolivia. pp. 37-42.
- Evans, L.T., 1993. *Crop evolution, adaptation and yield*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 500 p.
- Evans, L.T., 1997. Adapting and improving crops: the endless task. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, series B* 352: 901-906.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.

- FAO (Food and Agriculture Organization), 1997. Digital Soil Map of the World and derived Soil Properties. FAO Land & Water Digital Media Series N° 1 (CD-Rom). Rom, Italy : FAO.
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2001. Cultivos Andinos: Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. Mujica, A., Jacobsen, S.E., Izquierdo, J., Marathe, J.P. (Eds.). Santiago, Chile. (CD-Rom).
- FDTA (Fundación para el desarrollo tecnológico agropecuario del Altiplano), 2002. Prospección de demandas de la cadena productiva de la quinua en Bolivia. Editorial FDTA. Oruro, Bolivia. 111 p.
- Félix, D., 2008. *Culture durable du quinoa en Bolivie : pratiques individuelles et règles communautaires*. Lyon, France : VSF-CICDA-Ruralter.
- Ferguson, M., Newbury, H.J., Maxted, N., Ford-Lloyd, B., Robertson, L., 1998a. Population genetic structure in *Lens taxa* revealed by isozyme and RAPD analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 45: 549-559.
- Ferguson, M., Robertson, L., Ford-Lloyd, B., Newbury, H., Maxted, N., 1998b. Contrasting genetic variation among lentil landraces from different geographical origins. *Euphytica*, 102: 265-273.
- Ferreira, M.Y. & Grattapaglia, D., 1998. Introducción al uso de Marcadores Moleculares en el Análisis Genético. EMBRAPA-CENARGEN. Brasilia, DF, Brasil. 221 p.
- Figuroa, H., Barriga, P., Rojas, W., 2002. Multivariate analysis of genetic diversity of Bolivian quinoa germplasm. *Noticiario de Recursos Fitogenéticos*. N° 122, 16-23. FAO-IPGRI.
- Fofana, B., 1999. Étude de l'organisation de la diversité génétique de *Phaseolus lunatus* L. par l'utilisation de marqueurs AND nucléaires et chloroplastiques. PhD Thèse, Faculté Sciences Agronomiques, Gembloux-Belgique. 182 p.
- Fofana, B., Vekemans, X, Du Jardin, P., Baudouin, J.P., 1997. Genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus*) as revealed by RAPD markers. *Euphytica*, 95: 157-165.
- Fowler, D.B., Limin, A.E., Ritchie, J.T., 1999. Low-temperature tolerance in cereals: model and genetic interpretation. *Crop Science*, 39: 626-633.
- François, C., Bosseno, R., Vacher, J.J., Seguin, B., 1999. Frost risk mapping derived from satellite and surface data over the Bolivian Altiplano. *Agricultural and Forest Meteorology*, 95: 113-137.
- Frère, M., Rea, J., Rijks, J.Q., 1975. Estudio Agroclimático de la Zona Andina. Informe Técnico. Proyecto Interinstitucional. FAO/UNESCO/O.M.M., Roma, Italia. pp. 21-144.
- Galwey, N.W., 1993. The potential of quinoa as a multi-purpose crop for agricultural diversification: a review. *Industrial Crops and Products*, 1: 101-106.
- Gamarra, M., Bonifacio, A., Peralta, E., 2001. Mejoramiento genético y participativo en quinua al mildiu en Perú, Bolivia y Ecuador. *Site Internet*. Département de Phytologie de l'Université de Wageningen (Pays-Bas).

- Gandarillas, H., 1968. Caracteres botánicos más importantes para la clasificación de la quinua. In : *Anales de la Primera Convención de Quenopodiáceas quinua – cañahua*. Universidad Nacional Técnica del Altiplano (Ed). Puno, Perú. pp. 41-49.
- Gandarillas, H., 1979a. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): Botánica. In: *La Quinua y la Kañiwa cultivos andinos*. Tapia, M.E., Gandarillas, H., Alandia, S., Cardozo, A., Mujica, A. (Eds.). CIID-IICA. Bogota, Colombia. pp. 20-44.
- Gandarillas, H., 1979b. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): Genética y origen. In: *La Quinua y la Kañiwa cultivos andinos*. Tapia, M.E., Gandarillas, H., Alandia, S., Cardozo, A., Mujica, A. (Eds.). CIID-IICA. Bogota, Colombia. pp. 45-64.
- Gandarillas, H., 1982. *El cultivo de la quinua*. Ministerio de Asuntos Campesinos y Agropecuarios, Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria, Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. La Paz, Bolivia. 22 p.
- Gandarillas, H., 1984. *Obtención experimental de Chenopodium quinoa* Willd. La Paz, Bolivia: Ministerio de asuntos Campesinos y agropecuarios, Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria.
- Garcia, M., 1999. Rainfall and evapotranspiration analysis for the determination of irrigation requirements in the Bolivian Highlands. M.Sc. Dissertation IUPWARE, K.U. Leuven University. Leuven, Belgium. 73 p.
- Garcia, M., 2003. Agroclimatic study and drought resistance analysis of Quinoa for an irrigation strategy in the Bolivian altiplano. Ph. D. Thesis. n° 556. Faculty of Agriculture and Applied Biological Sciences, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium. 184 p.
- Garcia, M., Raes, D., Jacobsen, S.E., 2003. Evapotranspiration analysis and irrigation requirements of quinoa (*Chenopodium quinoa*) in the Bolivian highlands. *Agricultural Water Management*, 60: 119-134.
- Garreaud, R., Vuille, M., Clement, A.C., 2003. The climate of the Altiplano: observed current conditions and mechanisms of past changes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 194: 5-22.
- Geerts, S., 2004. Quinoa production in the Bolivian Altiplano: climatic constraints and modeling of water productivity. Master Dissertation of the Master of Science in Water Resources Engineering. Katholieke Universiteit Leuven, Belgium.
- Geerts, S., Raes, D., Garcia, M., Del Castillo, C., Buytaert, W., 2006. Agro-climatic suitability mapping for crop production in the Bolivian Altiplano: A case study for quinoa. *Agricultural and Forest Meteorology*, 139: 399-412.
- Gollin, D. & Smale, M., 1999. Valuing genetic diversity: crop plants and agroecosystems. In: *Biodiversity in Agroecosystems* (W. Collins and C. Qualset, Eds.). CRC Press, Boca Raton, USA. pp. 237-265.

- Grime, J.P., 1997. Biodiversity and ecosystem function: the debate deepens. *Science*, 277: 1260-1261.
- Hadrys, H., Balick, M., Schierwater, B., 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 1: 55-63.
- Hair, J.F., Anderson, R.E., Tatham, R.L., Black, W.C., 1999. Análisis Multivairante. 5^{ta} Edition. Traducción: Prentice E., Cano D., (Universidad Autónoma de Madrid). Prentice Hall. 812 p.
- Hamon, P., Seguin, M., Perrier, X., Glaszmann, J.Ch., 2003. Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants. Science Publishers Inc., USA, and CIRAD, France. 337 p.
- Hartl, D.L., 1988. A primer of population genetics. First edition. Sinauer Associates, Sunderland. 305 p.
- Hellin, J. & Higman, S., 2003. Quinoa and food security. In: Hellin J. and Higman S. (Eds.), Feeding the Market: South American Farmers, Trade and Globalisation, Intermediate Technology Development Group (ITDG) Publishing, London, UK. pp. 131-168.
- Henry, J.-P. & Gouyon, P.-H., 1999. Précis de génétique des populations. Paris, Dunod. 183 p.
- Herencia, LI., Alía, M, González, J.A., Urbano, P., 1999. Cultivo de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en la región Centro. *Vida Rural (España) 15 Mayo*: 28-33.
- Hillis, M., Moritz, C., Mable, B. K., 1996. Molecular systematics. Sinauer Associates, Sunderland. 655 p.
- Hoffmann, M.H., Tomiuk, J., Schmutz, H., Koch, Ch., Bachmann, K., 2005. Phenological and morphological responses to different temperature treatments differ among a world-wide sample of accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Acta Oecologica*, 28: 181-187.
- Holling, C.S., 1973. Resilance and stability of ecological systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 4: 1-23.
- IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources), 1981. *Descriptores de Quinoa*. International Board for Plant Genetic Resources, Roma, Italia. 18 p.
- INE (Instituto Nacional de Estadística), 2002. *Anuario Estadístico 2002*. Ministerio de Hacienda, Republica de Bolivia, La Paz, Bolivia.
- Izquierdo Fernández, J.I., Mujica, A., Jacobsen, S.E., Marathée, J.P., Morón, C., 2001. *Cultivos andinos. Versión 1.0*. (CD-Rom). Santiago, Chile : FAO. Accessible à: <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/pubs.html>
- Jacobsen, S.E., 1997. Adaptation of quinoa (*Chenopodium quinoa*) to Northern European agriculture : studies on developmental pattern. *Euphytica*, 96: 41-48.
- Jacobsen, S.E., 1998. Developmental stability of quinoa under European conditions. *Industrial Crops and Products*, 7: 169-174.

- Jacobsen, S.E., 2000. Resistencia a factores abióticos. In: Fernandez J., Mujica, A., Jacobsen S.E., Marathe, J.P., Moron, C. (Eds). 2001. Cultivos Andinos. CD versión 1.0. FAO, Santiago, Chile.
- Jacobsen, S.E., Monteros, C., Christiansen, J.L., Bravo, L.A., Corcuera, L.J., Mujica, A., 2005. Plant responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to frost at various phenological stages. *European Journal of Agronomy*, 22: 131-139.
- Jacobsen, S.E., Monteros, C., Corcuera, L.J., Bravo, L.A., Christiansen, J.L., Mujica, A., 2007. Frost resistance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *European Journal of Agronomy*, 26: 471-475.
- Jacobsen, S.E. & Stølen, O., 1993. Quinoa: morphology, phenology and prospects for its production as a new crop in Europe. *European Journal of Agronomy*, 2: 19-29.
- Jaramillo, S. & Baena, M., 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de recursos Fitogenéticos (IPGRI) grupo Américas. Cali, Colombia.
- Jarvis, D.I., Myer, L., Klemick, H., Guarino, L., Smale, M., Brown, A.D.H., Sadiki, M., Sthapit, B. Hodgkin, T., 2000. A Training Guide for *In situ* Conservation On-Farm. Version 1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome Italy. Available by download at: http://www.ipgri.cgiar.org/publications/pubfile.asp/ID_PUB=611
- Jensen, C.R., Jacobsen, S.E., Andersen, M.N., Nuñez, N., Andersen, S.D., Rasmussen, L., Mogensen, V.O., 2000. Leaf gas exchange and water relation characteristics of field quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during soil drying. *European Journal of Agronomy*, 13 : 211-223.
- Jones, C.J., Edwards, K.J., Castaglione, S., Winfield, M.O., Sala, F., van de Wiel, C., Bredemeijer, G., Vosman, B., Matthes, M., Daly, A., Brettschneider, R., Bettini, P., Buiatti, M., Maestri, E., Malcevski, N., Marmioli, N., Aert, R., Volckaert, G., Rueda, J., Linacero, R., Vasquez, A., Karp, A., 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding*, 3: 381-390.
- Kalberer Scott R., Wisniewski, M., Arora, R., 2006. Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: current understanding and emerging concepts. *Plant Science*, 171: 3-16.
- Keys, E., McConnell, W.J., 2005. Global change and the intensification of agriculture in the tropics. *Global Environmental Change Part A*, 15: 320-337.
- Koziol, M.J., 1992. Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Journal of Food Composition and Analysis*, 5: 35-68.
- Kubien, D.S. & Sage, R.F., 2004. Low-temperature photosynthetic performance of a C4 grass and a co-occurring C3 grass native to high latitudes. *Plant, Cell and Environment*, 27: 907-916.
- Lacroix, G. & Abbadie, L., 1998. Linking biodiversity and ecosystem function: an introduction. *Acta Oecologica*, 19: 189-193.

- Laguna, P., 2002. Competitividad, externalidades e internalidades: un reto para las organizaciones económicas campesinas: la inserción de la Asociación Nacional de Productores de Quinua en el mercado mundial de la quinua. *Debate Agrario (Centro Peruano de Estudios Sociales - CEPES)*, 34: 95-169.
- Laguna, P., 2003. El mercado global de la quinua y la capacidad competitiva de la cadena productiva quinua real. Diaporama, Conferencias temáticas IRD-Instituto de Ecología UMSA, 18 sep. 2003. La Paz, Bolivia. 22 p.
- Lambdon, P.W., Hassall, M., Boar, R.R., Mithen, R., 2003. Asynchrony in the nitrogen and glucosinolate leaf-age profiles of Brassica is this a defensive strategy against generalist herbivores?. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 97: 205-214.
- Le Tacon, P., 1989. Manifestation des risques climatiques à l'échelle de l'exploitation agricole, conséquence sur les pratiques paysannes, cas de l'Altiplano bolivien. *Mémoire d'étude ENSSAA-CNEARC, ENSAM, Dijon, France*. 130 p.
- Le Tacon, P., Vacher, J.J., Eldin, M., Imaña, E., 1992. Los riesgos de helada en el Altiplano boliviano. In: Morales, D., Vacher, J.J. (Eds.), *Actas del VII Congreso Internacional sobre Cultivos Andinos*, Orstom, La Paz, Bolivia. pp. 287-291.
- Ledesma, M., 2000. *Climatología y Meteorología Agrícola*. Edit. Paraninfo, S.A., Magallanes. Madrid, España. 449 p.
- León, J., 1964. Plantas alimenticias andinas. Lima Perú. IICA. Zona andina. Boletín técnico. N° 6.
- Lescano, J.L., 1994. *Genética y mejoramiento de cultivos andinos: quinoa, kañihua, tarwi, kiwicha, papa amarga, olluco, mashua y oca*. Programa Interinstitucional de Waru Waru, convenio INADE/PELT – COTESU. 459 p.
- Lhomme, J.P. & Vacher, J.J., 2002. Modelling nocturnal heat dynamics and frost mitigation in raised field systems of the Andean Altiplano. *Agriculture Forest and Meteorology*. 25 p.
- Lhomme, J.P. & Winkel, T., 2002. Diversity-stability relationships in community ecology: re-examination of the portfolio effect. *Theoretical Population Biology*, 62: 271-279.
- Limachi, J., 1992. Tolerancia a heladas de 14 ecotipos y 2 variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), en Waru-Waru de Caritamaya-Acora. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú. pp.180.
- Linhart, Y.B. & Grant, M.C., 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual review of Ecology and Systematics*, 27 : 237-278.
- Loreau, M., 2000. Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos*, 91: 3-17.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., Hooper, D. U., Huston, M. A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., Wardle, D. A., 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science*, 294(5543): 804-808.

- Lowe, A. J., Hanotte, O., Guarino, L., 1996. Standardization of molecular genetic techniques for the characterization of germplasm collections: the case of random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Research Newsletter*, 107: 50-54.
- Lucotte, G., 1983. Génétique des populations. Initiation théorique et biochimique à l'étude du polymorphisme. InterEditions, Paris, France.
- Lynch, M. & Milligan, B.G., 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3: 91-99.
- Maquet, A., 1995. Étude de la diversité génétique de la légumineuse alimentaire *Phaseolus lunatus* L. par l'analyse de caractères morphophysologiques et de marqueurs protéiques. PhD thèses, Fac. Université de Sciences Agronomique, Gembloux, Belgique. 203 pp.
- Marshall, E.J.P. & Moonen, A.C., 2002. Field margins in northern Europe: their functions and interactions with agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 89: 5-21.
- Mastebroek, H.D., Limburg, H., Gilles, T., Marvin, H.J.P., 2000. Occurrence of saponins in leaves and seeds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 152-156.
- Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G., Swift, M.J., 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277: 504-509.
- Maughan, P.J., Bonifacio, A., Jellen, E.N., Stevens, M.R., Coleman, C.E., Ricks, M., Mason, S.L., Jarvis, D.E., Gardunia, B.W., Fairbanks, D.J., 2004. A genetic linkage map of quinoa (*Chenopodium quinoa*) based on AFLP, RAPD, and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 1188-1195.
- Mayr, E., 1983. How to carry out the adaptationist program? *American Naturalist*, 121: 324-334.
- McPherson, M.J. & Moller, S.G., 2000. The Basics PCR. BIOS. Springer-Verlag New York Inc. USA.
- Mellas, H., 2000. Morocco. Seed supply systems : Data collection and analysis. In: Conserving agricultural biodiversity in situ : A scientific basis for sustainable agriculture. Jarvis, D., Sthapit, B. and Sears, L. (Eds.). Rome, Italy. pp. 155-156.
- Mengoni, A., Gori, A., Bazzicalupo, M., 2000. Use of RAPD and microsatellite (SSR) variation to assess genetic relationships among populations of tetraploid alfalfa, *Medicago sativa*. *Plant Breeding*, 119: 311-317.
- Michel, T., 1997. Zonificación agroclimática de los riesgos de sequía en el altiplano paceño utilizando modelos de simulación. Facultad de Agronomía – UMSA, La Paz, Bolivia. 84 p.
- Mihailovic, D.T. & Eitzinger, J., 2007. Modelling temperatures of crop environment. *Ecological Modelling*, 202: 465-475.
- Monteros, C. & Jacobsen, S.E., 1999. Tolerancia de la quinoa a heladas. In: Recursos genéticos y sistemas de producción. Primer taller internacional sobre Quinoa. Editorial La Molina. Lima, Perú. pp. 64-65.

- Monteros, C., 2000. Resistencia a factores adversos de la quinoa. QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd.) , ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. In: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. Mújica, A., Jacobsen, S.V., Izquierdo, J., Marathie, J.P. (Eds). CD Cultivos Andinos, versión 1.0 FAO.
- Montes de Oca, I., 1997. Geografía y recursos naturales de Bolivia. 3^{ra} edición, La Paz – Bolivia. 560 p.
- Mooney, H.A., 1991. Plant physiological ecology. Determinants of progress. *Functional Ecology*, 5: 127-135.
- Mooney, H.A., Pearcy, R.W., Ehleringer, J., 1987. Plant physiological ecology today. *Bioscience*, 37: 18-20.
- Morden, C.W., Doebley, J., Scherts, K.F., 1989. Allozyme variation in old world races of Sorghum bicolor (Poaceae). *American Journal of Botany*, 76: 247-255.
- Morlon, P., 1992. *Comprendre l'agriculture paysanne dans les Andes Centrales*. Paris, France, INRA. 522 p.
- Morlon, P., 1996. Comprender la agricultura campesina en los Andes Centrales, Perú y Bolivia. IFEA, CBC, Lima, Perú.
- Mujica, A., 1979. Practicas agronómicas. In: Tapia M.E., Gandarilla H., Alandia, S., Cardozo, A., Mujica, A., Ortiz R., Otazu, V., Rea, J., Salas, B., Zanabria, E., (Eds.). *La quinua y la Kañiwa cultivos andinos*. Bogota, Colombia : CIID-IICA. pp. 91-92.
- Mujica, A. & Jacobsen, S.E., 1999. Resistencia de la quinua a la sequía y otros factores abióticos adversos y su mejoramiento. In: I Curso Internacional sobre Fisiología de la Resistencia a Sequía en Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). CIP-DANIDA. Lima, Perú. pp. 25-38.
- Mujica, A., Jacobsen, S.E., Canahua, A., 2001. Las aynokas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) – un sistema de conservación de recursos genéticos estratégicos del altiplano peruano. *Site Internet*. CONDESAN, <http://www.condesan.org/infoandina/foros/insitu2001/S.Jacobsen-spanish.htm>.
- Mujica, A., Jacobsen, S.E., Izquierdo, J., Marathie, J.P. (coord.), 2001. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) : ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. CIP, UNAP, FAO. CD Cultivos Andinos, versión 1.0 FAO (Ed.). Santiago, Chile.
- Naeem, S., Håkanson, K., Lawton, J.H., Crawley, M.J., Thompson, L.J., 1996. Biodiversity and plant productivity in a model assemblage of plant species. *Oikos*, 76: 259-264.
- National Research Council, 1989. *Lost crops of the Incas: little-known plants of Andes with promise for worldwide cultivation*. National Academy Press. Washington, DC., USA. 427 p.
- Ng, S.C., Anderson, A., Coker, J., Ondrus, M., 2007. Characterization of lipid oxidation products in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Chemistry*, 101: 185-192.

- Nieto, C., Vimos, C., Caicedo, C., Monteros, C., Rivera, M., 1998. Respuesta de la quinua a diferentes tipos de rotación de los cultivos en dos localidades de la sierra, durante cinco años. *Site Internet*. IDRC. <http://www.idrc.ca/library/document/100162/>
- Nybom, H., 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 13: 1143-1155
- Nybom, H. & Bartish, I.V., 2000. Effects of life history and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Evolution and Systematics*, 3: 93-114.
- Olivieri, I. & Vitalis, R., 2001. The Biology of Extinctions. *Medicine Science*, 17:63-69.
- O'Neill, R.V., 1989. Perspectives in hierarchy and scales. In: *Perspectives in ecological theory*.
- Orsag, V., 1989. Determinación de las variaciones de almacenamiento de agua en un suelo Typic Palergid del Altiplano Central con ayuda de técnicas nucleares. *Ecología en Bolivia*, N° 13, La Paz, Bolivia. 17 p.
- Orsag, V., 1992. Perspectivas del manejo de suelos en el Altiplano central como alternativa para mejorar su régimen hídrico. In: *Actas del VII congreso internacional sobre cultivos andinos*. Morales, D. Vacher, J.J. (Eds.). 4-8 febrero, 1992. Orstom, La Paz, Bolivia. Informe N° 52. pp. 303-310.
- Ortiz, R., Castro, A., Danielsen, S., 2001. Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): plagas y enfermedades. In : Izquierdo Fernández J.I., Mujica, A., Jacobsen, S.E., Marathée, J.P., Morón, C. (Eds.). *Cultivos andinos, Version 1.0* (CD-Rom). Santiago, Chile : FAO.
- Ouédraogo, M., 2003. Etude de la variabilité génétique et flux de gènes chez des populations sauvages de *Phaseolus lunatus* L. dans la vallée centrale du Costa Rica à l'aide des marqueurs enzymatiques et microsattellites. Doctorat Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, Gembloux, Belgique. 144 p.
- Palm, R., 1996. *La classification numérique: principes et application*. Notes de statistique et d'informatique. Faculté des Sciences Agronomique de Gembloux. Gembloux, Belgique, 96/1. 28 p.
- Pearsall, D.M., 1992. The origins of plant cultivation in South America. In: Cowan C.W. and Watson P.J. (Eds.), *The origins of agriculture*, Smithsonian Institution Press, Washington, USA, pp. 173-205.
- Pigliucci, M., 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now?. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 481-486.
- Pinto, M.V., 2002. Análisis de la variabilidad genética del germoplasma de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) circundante al lago Titicaca. Tesis Ingeniería en Agronomía. Facultad de Agronomía, Universidad mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. 91 p.
- Plomion, C., 2003. Marqueurs génétiques moléculaires. In Tagu D., Moussard C., édés. *Principes des techniques de biologie moléculaire – 2^{ème} édition*. INRA Editions, Paris, France. pp. 143-146

- Prego, I., Maldonado, S., Otegui, M., 1998. Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany*, 82: 481-488.
- Primack, R.B., 1998. *Essentials of Conservation Biology*. Ed. Sunderland, Sinauer. 660 p.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), 1999. *Desarrollo humano, informe 1999*. Nueva York, Oxford University Press.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), 2004. *Índice de desarrollo humano en los Municipios de Bolivia. Informe Nacional de Desarrollo Humano 2004*. Plural Editores. La Paz, Bolivia. 87 p.
- Rea, J., 1969. Morfología de la quinua. In: *Observaciones sobre la biología floral y estudios de saponinas en Chenopodium quinoa Willd.* Ministerio de Agricultura. Departamento de Experimentación. Serie Técnica N° 3. La Paz, Bolivia. pp. 15-17.
- Rice, K.J. & Mack, R.N., 1991. Ecological genetics of *Bromus tectorum*. 1. A hierarchical analysis of phenotypic variation. *Oecologia*, 88: 77-83.
- Rieseberg, L.H. & Ellstrand, N.C., 1993. What Can Molecular and Morphological Markers Tell Us About Plant Hybridization?. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 12: 213-241.
- Rieseberg, L.H., Raymond, O., Rosenthal, D.M., Lai, Z., Livingstone, K., Nakazato, T., Durphy, J.L., Schwarzbach, A.E., Donovan, L.A., Lexer, C., 2003. Major ecological transition in wild sunflowers facilitated by hybridization. *Science*, 301:1211-1216.
- Risi, G. & Galwey, N.W., 1989. The pattern of genetic diversity in the Andean grain crop quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). I. Associations between characteristics. *Euphytica*, 41: 147-162.
- Rojas, W., 1998. *Análisis de la diversidad genética del germoplasma de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) de Bolivia, mediante métodos multivariados*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 209 p.
- Rojas, W., Barriga, P., Figueroa, H., 2000. Multivariate analysis of the genetic diversity of Bolivian quinoa germplasm. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 122: 16-23.
- Roldán-Ruiz, I., van Eeuwijk, F.A., Gilliland, T.J., Dubreuil, P., Dillmann, C., Lallemand, J., De Loose, M., Baril, C.P., 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1138-1150.
- Rosa, M., Hilal, M., González, J. A., Prado, F.E., 2004. Changes in soluble carbohydrates and related enzymes induced by low temperature during early developmental stages of quinoa (*Chenopodium quinoa*) seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 161: 683-689.
- Ruas, P., Bonifacio, A., Ruas, C., Fairbanks, D., Andersen, W., 1999. Genetic relationship among 19 accessions of six species of *Chenopodium* L., by Random Amplified Polymorphic DNA fragments (RAPD). *Euphytica*, 105: 25-32.

- Ryser, P., & Eek, L., 2000. Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. *American Journal of Botany*, 87: 402-411.
- Saad, L., 2002. Étude écogéographique et biologie de la conservation des *Iris* oncocycles endémiques du Liban. Mémoire de D.E.A. – Faculté des sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique. 64 p.
- Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., Arnheim, N., 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Sciences*, 230 : 1350-1354.
- Sakai, A. & Larcher, W., 1987. Frost survival of plants: responses and adaptation to freezing stress. Ecological Studies 62. Berlin, Germany, Springer Verlag. 321 p.
- Samañez, R., 1977. Biología floral en dos líneas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). In : QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) Ancestral Cultivo Andino, Alimento del presente y futuro. A. Mujica, S.E. Jacobsen, J. Izquierdo y J. P. Marathee (Eds.) - 2001. CD Cultivos Andinos / FAO – Versión 1.0. Santiago, Chile.
- Sanchez de Lozada, D., Baveye, P., Riha, S., 1998. Heat and moisture dynamics in raised field systems of the lake Titicaca region (Bolivia). *Agricultural and Forest Meteorology*, 92: 251-265.
- San Martin, R., Ndjoko, K., Hostettmann, K., 2007. Novel molluscicide against *Pomacea canaliculata* based on quinua (*Chenopodium quinoa*) saponins. *Crop Protection*, 27 : 310-319.
- Santoni, S., Faivre-Rampant, P., Prado, E., Prat, D., 2000. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers Agricultures*, 9: 311-327.
- Schneider, S., Roessli, D., Excoffier, L., 2000. *Arlequin Ver. 2.0 – a software for populations genetics data analysis*. Switzerland, University of Geneva. 111 p.
- Scowcroft, P.G., Meinzer, F.C., Goldstein, G., Melcher, P.J., Jeffrey, J., 2000. Moderating night radiative cooling reduces frost damage to *Metrosideros polymorpha* seedlings used for forest restoration in Hawaii. *Restoration Ecology*, 8: 161-169.
- Shrestha, M.K., Golan-Goldhirsh, A., Ward, D., 2002. Population genetic structure and the conservation of isolated populations of *Acacia raddiana* in the Negev Desert, *Biological Conservation*, 108: 119-127.
- Strelchenko, P., Kovalyova, O., Okuno, K., 1999. Genetic differentiation and geographical distribution of barley germplasm based on RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 193-205.
- Sultan, S.E., 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology*, 21: 127-178.

- Swift, M.J., Izac, A.M.N., van Noordwijk, M., 2004. Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes: are we asking the right questions? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 104: 113-134.
- Swift, M.J., Vandermeer, J., Ramakrishnan, P.S., Anderson, J.M., Ong, C.K., Hawkins, B.A., 1996. Biodiversity and agroecosystem function. In: *Functional Roles of Biodiversity: A Global Perspective*. Mooney, H.A., Cushman, J.H., Medina, E., Sala, O.E., Schulze, E.D. (Eds.). John Wiley & Sons. Chichester, UK. pp. 261-298.
- Swynghedauw, B., 2000. Biologie et génétique moléculaire. Aide-mémoire. 2^e édition. Dunod, Paris, France. 156 p.
- Tagu, D. & Moussard, C., 2003. Principes des techniques de biologie moléculaire. 2^e édition. INRA, Paris. 176 p.
- Tapia, M.E., 1979. Historia y distribución geográfica. In: Tapia, M. *et al* (Eds). Quinoa y Kañiwa cultivos andinos. Centro Internacional para el desarrollo, IICA. Bogota, Colombia. pp. 15-19.
- Tapia, M.E., 2002. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. In: *Cultivos Andinos*. CD-Rom, Versión 1.0. FAO, UNA-Puno, CIP. Santiago, Chile.
- Tapia, M.E., Gandarillas, H., Alandia, S., Cardozo, A., Mujica, A., Ortiz, R., Otazu, V., Rea, J., Salas, B., Zanabria, E., 1979. La quinua y la kañiwa: cultivos andinos. In: Tapia, M. (Ed.). Serie libros y materiales educativos 49. IICA, CIID. Bogotá, Colombia. 228 p.
- Taschler, D. & Neuner, G., 2004. Summer frost resistance and freezing patterns measured *in situ* in leaves of major alpine plant growth forms in relation to their upper distribution boundary. *Plant, Cell and Environment*, 27: 737-746.
- Tilman, D., 1999. Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96: 5995-6000.
- Tilman, D. & Downing, J.A., 1994. Biodiversity and stability in grasslands. *Nature*, 367: 363-365.
- Tilman, D., Knops, J., Wedin, D., Reich, P., Ritchie, M., Siemann, E., 1997. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, 277: 1300-1302.
- Tilman, D. & Lehman, C.L., 2001. Human-caused environmental change: impacts on plant diversity and evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98: 5433-5440.
- Tingey, S.V. & del Tufo, J.P., 1993. Genetic analysis with Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Plant Physiology*, 101: 349-352.
- Torres, E., 1984. Agrometeorología. Editorial DIANA primera edición. México. pp. 67-101.
- Trenbath, B.R., 1974. Biomass productivity of mixtures. *Advances in Agronomy*, 26: 177-210
- Udabe, B.J., 1994. Diagnostico Socio-económico de la Micro región Irpa Tayka Choquenaira. Estación Experimental San Gabriel. Proyecto "Irpa Tayka". Provincia Ingavi. Viacha, Bolivia. pp. 209.

- Urban, D.L., O'Neill, R., Shugart, H.H., 1987. Landscape ecology: a hierarchical perspective can help scientists understand spatial patterns. *Bioscience* 37: 119-127.
- Vacher, J.J., 1989. *Los riesgos de la helada en el Altiplano boliviano*. ORSTOM – SENAMHI, La Paz, Bolivia. 10 p.
- Vacher, J.J., 1998. Responses of two main Andean crops, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and papa amarga (*Solanum juzepczukii* Buk.) to drought on the Bolivian Altiplano: significance of local adaptation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 68: 99-108.
- Vacher, J.J., Del Castillo, C., Dizès, J., Bosseno, R., 1998. Une pratique paysanne face aux risques de sécheresse sur l'Altiplano Bolivien: l'utilisation d'une biodiversité de *Solanum*. In: La conduite du champ cultivé. Point de vue d'agronomes. Biarnes, A. (Ed.). Collection Colloques et Séminaires ORSTOM, Paris, France. pp. 55-74.
- Vandermeer, J., 1995. The ecological basis of alternative agriculture. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26: 201-224.
- Vekemans, X. & Jacquemart, A.L., 1997. Perspectives on the use of molecular markers in plant population biology. *Belgian Journal of Botany*, 129: 91-100.
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenko, J., Melillo, J.M., 1997. Human domination of Earth's ecosystems. *Science*, 277: 494-499.
- Vuille, M., 1999. Atmospheric circulation over the Bolivian altiplano during dry and wet periods and extreme phases of the southern oscillation. *International Journal of Climatology*, 19:1579–1600.
- Ward, S.M., 2000. Response to selection for reduced grain saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) *Field Crops Research*, 68: 157-163.
- Welsh, J. & McClelland, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic acid Research*, 18: 7213-7218.
- Western, D., 2001. Human-modified ecosystems and future evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98: 5458-5465.
- White, T.J., Arnheim, N., Erlich, H., 1989. The polymerase chain reaction. *Trends in Genetics*, 5: 185-188.
- Williams, J.G.K., Rubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
- Wilson, H.D., 1981. Genetic variation among south American populations of tetraploid *Chenopodium* sect. *Chenopodium* subsect. *Cellulata*. *Systematic Botany*, 6: 380-398.
- Wilson, H.D., 1988a. Allozyme variation and morphological relationship of *Chenopodium hircinum* (s.l.). *Systematic Botany*, 13: 215-228.

- Wilson, H.D., 1988b. Quinoa biosystematics. I: Domesticated populations. *Economic Botany*, 42: 461-477.
- Wilson, H.D., 1988c. Quinoa biosystematics. II: Free-living populations. *Economic Botany*, 42: 478-494.
- Wilson, H.D., 1990. Gene flow in squash species. *Bioscience*, 40: 449-455.
- Wilson, H.D., 1990. Quinoa and relatives (*Chenopodium* sect. *Chenopodium* subsect. *cellulata*). *Economic Botany*, 44: 92-110
- Wilson, H.D. & Manhart, J., 1993. Crop/weed gene flow: *Chenopodium quinoa* Willd. and *C. Berlandieri* Moq. *Theoretical and Applied Genetics*, 86: 642-648.
- Winkel, T., Méthy, M., Thénot, F., 2002. Radiation-use efficiency, chlorophyll fluorescence and reflectance indices, associated with ontogenic changes in water-limited *Chenopodium quinoa* leaves. *Photosynthetica*, 40: 227-232.
- Wood, D. & Lenné, J.M. (Eds.), 1999. *Agrobiodiversity: characterization, utilization, and management*. CABI Publishing, Wallingford, UK. 490 p.
- Wood, S., Sebastian, K., Scherr, S.J., 2000. Pilot analysis of global ecosystems: agroecosystems. 94 p. International Food Policy Research Institute, World Resources Institute. Washington, USA. <http://www.wri.org/wr2000>.
- Yachi, S. & Loreau, M., 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96: 1463-1468.
- Zhu, Y.Y., Chen, H.R., Fan, J.H., Wang, Y.Y., Li, Y., Chen, J.B., Fan, J.X., Yang, S.S., Hu, L.P., Leung, H., Mew, T.W., Teng, P.S., Wang, Z.H., Mundt, C.C., 2000. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 406: 718-722.
- Zimmerer, K.S., 1991. The regional biogeography of native potato cultivars in highland Peru. *Journal of Biogeography*, 18: 165-178.
- Zimmerer, K.S., 1996. *Changing fortunes: biodiversity and peasant livelihood in the Peruvian Andes*. University of California Press. Berkeley, USA. 308 p.
- Zimmerer, K.S., 1998. The ecogeography of Andean potatoes: versatility in farm regions and fields can aid sustainable development. *Bioscience*, 48: 445-454.
- Zimmerer, K.S., 2003. Just small potatoes (and ulluco)? The use of seed-size variation in "native commercialised" agriculture and agrobiodiversity conservation among Peruvian farmers. *Agriculture and human values*, 20 : 107-123.
- Zimmerer, K.S. & Douches, D.S., 1991. Geographical approaches to native crop research and conservation: the partitioning of allelic diversity in Andean potatoes. *Economic Botany*, 45: 176-189.

Zoro, Bi, I., 1999. Variabilité génétique des populations sauvages de *Phaseolus lunatus* L. dans la vallée centrale du Costa Rica et ses implications dans la mise au point d'une stratégie de conservation *in situ*. Doctorat Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, Gembloux, Belgique. 175 p.