

Neuvième article : Genetic diversity and phylogeny of wild cowpea [*Vigna unguiculata* L. (Walp)] accessions using Simple Sequence Repeat Markers (SSR)

Par : A. J. C. Quenum, A. Bodian, D. Foncéka, N. Cissé, I. Diédhiou, S. Diallo, D. Diouf and M. S. Mbaye

Pages (pp.) 124-142.

Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) – Juin 2022 – Volume 32 - Numéro 01

Le BRAB est en ligne (on line) sur le site web <http://www.slire.net> et peut être aussi consulté sur le site web de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB) <http://www.inrab.org>

ISSN imprimé (print ISSN) : 1025-2355 et ISSN électronique (on line ISSN) : 1840-7099

Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin



**Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)**

**Direction Scientifique (DS) - Service Animation Scientifique (SAS)**

01 BP 884 Recette Principale, Cotonou 01 - République du Bénin

Tél. : (+229) 21 30 02 64 ; E-mail : [sp.inrab@inrab.org](mailto:sp.inrab@inrab.org) / [inrabdg1@yahoo.fr](mailto:inrabdg1@yahoo.fr) / [brabpisbinrab@gmail.com](mailto:brabpisbinrab@gmail.com)

La rédaction et la publication du bulletin de la recherche agronomique du Bénin (BRAB) de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)

01 B.P. 884 Recette Principale, Cotonou 01

Tél. : (+229) 21 30 02 64 - E-mail: [brabpisbinrab@gmail.com](mailto:brabpisbinrab@gmail.com)

République du Bénin

## Sommaire

Sommaire	i
Informations générales	ii
Indications aux auteurs	iii
Déterminants de l'abandon des foyers améliorés dans les systèmes de production du sel à Djègbadji, au Sud-Bénin <b>E. A. Padonou, E. Totin, B. A. Akakpo, E. Gbenontin et M. A. Kolawole</b>	1
Evaluation of acute toxicity of aqueous extract of <i>Parkia biglobosa</i> and <i>Pterocarpus erinaceus</i> in albino wistar rats <b>V. F. G. N. Dèdèhou, G. G. Alowanou, A. P. Olounladé and S. M. Hounzangbé Adoté</b>	10
Systèmes locaux de culture du pois de terre (pois Bambara) et adaptabilité des producteurs à la variabilité climatique au Bénin <b>C. A. Kanninkpo, Y. Y. Akin, G. Dagbenonbakin et C. A. I. N. Ouinsavi</b>	17
Banana Bunchy Top Disease (BBTD): Distribution, incidence and farmers' knowledge in Benin <b>M. Y. Vodounou, U. Agoi and M. Zandjanakou-Tachin</b>	32
Massage avec des extraits de plantes médicinales dans le traitement traditionnel des lombalgies et douleurs chroniques de l'appareil locomoteur humain : Synthèse bibliographique <b>M. S. Dako, H. A. S. Kora, K. M. Kafoutchoni, V. S. Kolawole, L. Yessoufou, F. J. Chadare, A. E. Assogbadjo et M. M. Lawani</b>	44
Caractérisation de la production du pain à base de farine de blé au Bénin <b>T. K. Bossou, D. S. Dabadé, S. Adetonah, O. D. Bello, G. D. L. Atchouke, K.U.S. Edikou et J. Dossou</b>	83
Evaluation des performances des technologies endogènes les plus prometteuses pour la production de jus d'orange à petite échelle au Bénin <b>P. A. F. Houssou, V. Dansou, A. B. Hotegni, W. A. Sagui, C. Sacca, K. Aboudou et H. Zannou</b>	98
Renforcement des capacités de résilience des ménages ruraux aux changements climatiques en production animale et halieutique au Bénin <b>S. C. Akpovi et P. V. Vissoh</b>	106
Genetic diversity and phylogeny of wild cowpea [ <i>Vigna unguiculata</i> L. (Walp)] accessions using Simple Sequence Repeat Markers (SSR) <b>A. J. C. Quenum, A. Bodian, D. Foncéka, N. Cissé, I. Diédhiou, S. Diallo, D. Diouf and M. S. Mbaye</b>	124
Influence des représentations sociales sur l'adoption de la mécanisation dans la production agricole au Bénin <b>C. L. Hinnou, A. O. A. Ayedoun, G. Maboudou Alidou et R. Okouadé</b>	143

## Informations générales

Le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) édité par l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB) est un organe de publication créé en mai 1991 pour offrir aux chercheurs béninois et étrangers un cadre pour la diffusion des résultats de leurs travaux de recherche. Il accepte des articles originaux de recherche et de synthèse, des contributions scientifiques, des articles de revue, des notes et fiches techniques, des études de cas, des résumés de thèse, des analyses bibliographiques, des revues de livres et des rapports de conférence relatifs à tous les domaines de l'agronomie et des sciences apparentées, ainsi qu'à toutes les disciplines du développement rural. La publication du Bulletin est assurée par un comité de rédaction et de publication appuyés par un conseil scientifique qui réceptionne les articles et décide de l'opportunité de leur parution. Ce comité de rédaction et de publication est appuyé par des comités de lecture qui sont chargés d'apprécier le contenu technique des articles et de faire des suggestions aux auteurs afin d'assurer un niveau scientifique adéquat aux articles. La composition du comité de lecture dépend du sujet abordé par l'article proposé. Rédigés en français ou en anglais, les articles doivent être assez informatifs avec un résumé présenté dans les deux langues, dans un style clair et concis. Une note d'indications aux auteurs est disponible dans chaque numéro et peut être obtenue sur demande adressée au secrétariat du BRAB. Pour recevoir la version électronique pdf du BRAB, il suffit de remplir la fiche d'abonnement et de l'envoyer au comité de rédaction avec les frais d'abonnement. La fiche d'abonnement peut être obtenue à la Direction Générale de l'INRAB, dans ses Centres de Recherches Agricoles ou à la page vii de tous les numéros. Le BRAB publie par an normalement deux (02) numéros en juin et décembre mais quelquefois quatre (04) numéros en mars, juin, septembre et décembre et aussi des numéros spéciaux mis en ligne sur le site web : <http://www.slire.net>. Un thesaurus spécifique dénommé « TropicAgrif » (Tropical Agriculture and Forestry) a été développé pour caractériser les articles parus dans le BRAB et servir d'autres revues africaines du même genre. Pour les auteurs, une contribution de cinquante mille (50.000) Francs CFA est demandée par article soumis et accepté pour publication. L'auteur principal reçoit la version électronique pdf du numéro du BRAB contenant son article.

Comité de Rédaction et de Publication du Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin - 01 BP 884 Recette  
Principale - Cotonou 01 – Tél.: (+229) 21 30 02 64 - E-mail: [brabpbinrab@gmail.com](mailto:brabpbinrab@gmail.com) – République du Bénin

**Éditeur :** Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)

**Comité de Rédaction et de Publication :** -i- **Directeur de rédaction et de publication :** Directeur Général de l'INRAB ; -ii- **Rédacteur en chef :** Directeur Scientifique de l'INRAB ; -iii- **Secrétaire documentaliste :** Documentaliste archiviste de l'INRAB ; -iv- **Maquettiste :** Analyste programmeur de l'INRAB ; -v- **Opérateur de mise en ligne :** Dr Ir. Sètchéme Charles Bertrand POMALEGNI, Chargé de recherche ; -vi- **Membres :** Dr Ir. Guy A. MENSAH, Directeur de Recherche, Dr Ir. Angelo C. DJIHINTO, Maître de Recherche, Dr Ir. Rachida SIKIROU, Maître de Recherche et MSc. Ir. Gbènakpon A. Y. G. AMAGNIDE.

**Conseil Scientifique :** Membres du Conseil Scientifique de l'INRAB, Pr. Dr Ir. Brice A. SINSIN (Écologie, Foresterie, Faune, PFNL, Bénin), Pr. Dr Michel BOKO (Climatologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Joseph D. HOUNHOUGAN (Sciences et biotechnologies alimentaires, Bénin), Pr. Dr Ir. Abdourahmane BALLA (Sciences et biotechnologies alimentaires, Niger), Pr. Dr Ir. Kakai Romain GLELE (Biométrie et Statistiques, Bénin), Pr. Dr Agathe FANTODJI (Biologie de la reproduction, Elevage des espèces gibier et non gibier, Côte d'Ivoire), Pr. Dr Ir. Jean T. C. CODJIA (Zootechnie, Zoologie, Faune, Bénin), Pr. Dr Ir. Euloge K. AGBOSSOU (Hydrologie, Bénin), Pr. Dr Sylvie M. HOUNZANGBE-ADOTE (Parasitologie, Physiologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Jean C. GANGLO (Agro-Foresterie), Dr Ir. Guy A. MENSAH (Zootechnie, Faune, Elevage des espèces gibier et non gibier, Bénin), Pr. Dr Moussa BARAGÉ (Biotechnologies végétales, Niger), Pr. Dr Jeanne ZOUNDJIHEKPON (Génétique, Bénin), Pr. Dr Ir. Gauthier BIAOU (Économie, Bénin), Pr. Dr Ir. Roch MONGBO (Sociologie, Anthropologie, Bénin), Dr Ir. Gualbert GBEHOUNOU (Malherbologie, Protection des végétaux, Bénin), Dr Ir. Attanda Mouinou IGUE (Sciences du sol, Bénin), Dr DMV. Delphin O. KOUDANDE (Génétique, Sélection et Santé Animale, Bénin), Dr Ir. Aimé H. BOKONON-GANTA (Agronomie, Entomologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Rigobert C. TOSSOU (Sociologie, Bénin), Dr Ir. Anne FLOQUET (Économie, Allemagne), Dr Ir. André KATARY (Entomologie, Bénin), Dr Ir. Hessou Anastase AZONTONDE (Sciences du sol, Bénin), Dr Ir. Claude ADANDEDJAN (Zootechnie, Pastoralisme, Agrostologie, Bénin), Dr Ir. Paul HOUSSOU (Technologies agro-alimentaires, Bénin), Dr Ir. Adolphe ADJANOHOOUN (Agro-foresterie, Bénin), Dr Ir. Isidore T.GBEGO (Zootechnie, Bénin), Dr Ir. Françoise ASSOGBA-KOMLAN (Maraîchage, Sciences du sol, Bénin), Dr Ir. André B. BOYA (Pastoralisme, Agrostologie, Association Agriculture-Élevage), Dr Ousmane COULIBALY (Agro-économie, Mali), Pr. Dr Ir. Luc O.SINTONDJI (Hydrologie, Génie Rural, Bénin), Dr Ir. Vincent J. MAMA (Foresterie, SIG, Bénin)

**Comité de lecture :** Les évaluateurs (referees) sont des scientifiques choisis selon leurs domaines et spécialités.

## Indications aux auteurs

### Types de contributions et aspects généraux

Le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) accepte des articles scientifiques, des articles de synthèse, des résumés de thèse de doctorat, des analyses bibliographiques, des notes et des fiches techniques, des revues de livres, des rapports de conférences, d'ateliers et de séminaires, des articles originaux de recherche et de synthèse, puis des études de cas sur des aspects agronomiques et des sciences apparentées produits par des scientifiques béninois ou étrangers. La responsabilité du contenu des articles incombe entièrement à l'auteur et aux co-auteurs. Le BRAB publie par an normalement deux (02) numéros en juin et décembre mais quelquefois quatre (04) numéros en mars, juin, septembre et décembre et aussi des numéros spéciaux mis en ligne sur le site web : <http://www.slire.net>. Pour les auteurs, une contribution de cinquante mille (50.000) Francs CFA est demandée par article soumis et accepté pour publication. L'auteur principal reçoit la version électronique pdf du numéro du BRAB contenant son article.

### Soumission de manuscrits

Les articles doivent être envoyés par voie électronique par une lettre de soumission (*covering letter*) au comité de rédaction et de publication du BRAB aux adresses électroniques suivantes : E-mail : [brabpbinrab@gmail.com](mailto:brabpbinrab@gmail.com). Dans la lettre de soumission les auteurs doivent proposer l'auteur de correspondance ainsi que les noms et adresses (y compris les e-mails) de trois (03) experts de leur discipline ou domaine scientifique pour l'évaluation du manuscrit. Certes, le choix des évaluateurs (*referees*) revient au comité éditorial du Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin. Les manuscrits doivent être écrits en français ou en anglais, tapé/saisi sous Winword ou Word ou Word docx avec la police Arial taille 10 en interligne simple sur du papier A4 (21,0 cm x 29,7 cm). L'auteur doit fournir des fichiers électroniques des illustrations (tableaux, figures et photos) en dehors du texte. Les figures doivent être réalisées avec un logiciel pour les graphiques. Les données ayant servi à élaborer les figures seront également fournies. Les photos doivent être suffisamment contrastées. Les articles sont soumis par le comité de rédaction à des évaluateurs, spécialistes du domaine.

### Sanction du plagiat et de l'autoplégat dans tout article soumis au BRAB pour publication

De nombreuses définitions sont données au plagiat selon les diverses sources de documentations telles que « -i- Acte de faire passer pour siens les textes ou les idées d'autrui. -ii- Consiste à copier les autres en reprenant les idées ou les résultats d'un autre chercheur sans le citer et à les publier en son nom propre. -iii- Copie frauduleuse d'une œuvre existante en partie ou dans sa totalité afin de se l'approprier sans accord préalable de l'auteur. -iv- Vol de la création originale. -v- Violation de la propriété intellectuelle d'autrui. » (<https://integrite.umontreal.ca/reglements/definitions-generales/>). Le Plagiat et l'Autoplégat sont à bannir dans les écrits scientifiques. Par conséquent, tout article soumis pour sa publication dans le BRAB doit être préalablement soumis à une analyse de plagiat, en s'appuyant sur quelques plateformes de détection de plagiat. Le **plagiat constaté dans tout article** sera sanctionné par un retour de l'article accompagné du **rapport de vérification du plagiat par un logiciel antiplagiat** à l'auteur de correspondance pour sa correction avec **un taux de tolérance de plagiat ou de similitude inférieur ou égal à sept pour cent (07%)**.

### Respecter de certaines normes d'édition et règles de présentation et d'écriture

Pour qu'un article soit accepté par le comité de rédaction, il doit respecter certaines normes d'édition et règles de présentation et d'écriture. Ne pas oublier que les trois (3) **qualités fondamentales d'un article scientifique** sont la **précision** (supprimer les adjectifs et adverbes creux), la **clarté** (phrases courtes, mots simples, répétition des mots à éviter, phrases actives, ordre logique) et la **brièveté** (supprimer les expressions creuses). **Le temps des verbes doit être respecté**. En effet, tout ce qui est expérimental et non vérifié est rédigé au passé (passé composé et imparfait) de l'indicatif, notamment les parties *Méthodologie (Matériels et méthodes)* et *Résultats*. Tandis que tout ce qui est admis donc vérifié est rédigé au présent de l'indicatif, notamment les parties *Introduction*, avec la citation de résultats vérifiés, *Discussion* et *Conclusion*. Toutefois, en cas de doute, rédigez au passé. Pour en savoir plus sur la méthodologie de rédaction d'un article, prière consulter le document suivant : **Assogbadjo A. E., Aïhou K., Youssao A. K. I., Fovet-Rabot C., Mensah G. A., 2011. L'écriture scientifique au Bénin. Guide contextualisé de formation. Cotonou, INRAB, 60 p. ISBN : 978-99919-857-9-4 – INRAB 2011. Dépôt légal n° 5372 du 26 septembre 2011, 3<sup>ème</sup> trimestre 2011. Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin.**

---

## Titre

Dans le titre se retrouve l'information principale de l'article et l'objet principal de la recherche. Le titre doit contenir 6 à 10 mots (22 mots au maximum) en position forte, décrivant le contenu de l'article, assez informatifs, descriptifs, précis et concis. Un bon titre doit donner le meilleur aperçu possible de l'article en un minimum de mots. Il comporte les mots de l'index *Medicus*. Le titre est un message-réponse aux 5 W [what (quoi ?), who (qui ?), why (pourquoi ?), when (quand ?), where (où ?)] & 1 H [how (comment ?)]. Il est recommandé d'utiliser des sous-titres courts et expressifs pour subdiviser les sections longues du texte mais écrits en minuscules, sauf la première lettre et non soulignés. Toutefois, il faut éviter de multiplier les sous-titres. Le titre doit être traduit dans la seconde langue donc écrit dans les deux langues français et anglais.

## Auteur et Co-auteurs

Les initiales des prénoms en majuscules séparées par des points et le nom avec 1<sup>ère</sup> lettre écrite en majuscule de tous les auteurs (auteur & co-auteurs), sont écrits sous le titre de l'article. Immédiatement, suivent les titres académiques (Pr., Dr, MSc., MPhil. et/ou Ir.), les prénoms écrits en minuscules et le nom écrit en majuscule, puis les adresses complètes (structure, BP, e-mail, Tél. et pays) de tous les auteurs. Il ne faut retenir que les noms des membres de l'équipe ayant effectivement participé au programme de recherche et à la rédaction de l'article.

## Résumé

Un bref résumé dans la langue de l'article est précédé d'un résumé détaillé dans la seconde langue (français ou anglais selon le cas) et le titre sera traduit dans cette seconde langue. Le résumé est une compression en volume plus réduit de l'ensemble des idées développées dans un document, etc. Il contient l'essentiel en un seul paragraphe de 200 à 350 mots. Le résumé contient une **Introduction** (contexte, Objectif, etc.) rédigée avec 20% des mots, la **Méthodologie** (type d'étude, échantillonnage, variables et outils statistiques) rédigée avec 20% des mots, les **Résultats obtenus et leur courte discussion** (résultats importants et nouveaux pour la science), rédigée avec 50% des mots et une **Conclusion** (implications de l'étude en termes de généralisation et de perspectives de recherches) rédigée avec 10% des mots.

## Mots-clés

Les 3 à 5 mots et/ou groupes de mots clés les plus descriptifs de l'article suivent chaque résumé et comportent le pays (la région), la problématique ou l'espèce étudiée, la discipline ou le domaine spécifique, la méthodologie, les résultats et les perspectives de recherche. Il est conseillé de choisir d'autres mots/groupes de mots autres que ceux contenus dans le titre.

## Texte

Le texte doit être rédigé dans un langage simple et compréhensible. L'article est structuré selon la discipline scientifique et la thématique en utilisant l'un des plans suivants avec les Remerciements (si nécessaire) et Références bibliographiques : *IMReD* (Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats, Discussion/Résultats et Conclusion) ; *ILPIA* (Introduction, Littérature, Problème, Implication, Avenir) ; *OPERA* (Observation, Problème, Expérimentation, Résultats, Action) ; *SOSRA* (Situation, Observation, Sentiments, opinion, Réflexion, Action) ; *ESPRIT/SPRIT* [Entrée en matière (introduction), Situation du problème, Problème précis, Résolution, Information appliquée ou détaillée, Terminaison (conclusion)] ; *APPROACH* (Annonce, Problématique (perutable avec Présentation), Présentation, Réactions, Opinions, Actions, Conclusions, Horizons) ; etc.

## Introduction

L'introduction c'est pour persuader le lecteur de l'importance du thème et de la justification des objectifs de recherche. Elle motive et justifie la recherche en apportant le background nécessaire, en expliquant la rationalité de l'étude et en exposant clairement l'objectif et les approches. Elle fait le point des recherches antérieures sur le sujet avec des citations et références pertinentes. Elle pose clairement la problématique avec des citations scientifiques les plus récentes et les plus pertinentes, l'hypothèse de travail, l'approche générale suivie, le principe méthodologique choisi. L'introduction annonce le(s) objectif(s) du travail ou les principaux résultats. Elle doit avoir la forme d'un entonnoir (du général au spécifique).

## Matériels et méthodes

Il faut présenter si possible selon la discipline le **milieu d'étude** ou **cadre de l'étude** et indiquer le lien entre le milieu physique et le thème. **La méthodologie d'étude** permet de baliser la discussion sur les résultats en renseignant sur la validité des réponses apportées par l'étude aux questions formulées en introduction. Il faut énoncer les méthodes sans grands détails et faire un extrait des principales utilisées. L'importance est de décrire les protocoles expérimentaux et le matériel utilisé, et de préciser la taille de l'échantillon, le dispositif expérimental, les logiciels utilisés et les analyses statistiques effectuées. Il faut donner toutes les informations permettant d'évaluer, voire de répéter l'essai, les calculs et les observations. Pour le matériel, seront indiquées toutes les caractéristiques scientifiques comme le genre, l'espèce, la variété, la classe des sols, etc., ainsi que la provenance, les quantités, le mode de préparation, etc. Pour les méthodes, on indiquera le nom des dispositifs expérimentaux et des analyses statistiques si elles sont bien connues. Les techniques peu répandues ou nouvelles doivent être décrites ou bien on en précisera les références bibliographiques. Toute modification par rapport aux protocoles courants sera naturellement indiquée.

## Résultats

Le texte, les tableaux et les figures doivent être complémentaires et non répétitifs. Les tableaux présenteront un ensemble de valeurs numériques, les figures illustrent une tendance et le texte met en évidence les données les plus significatives, les valeurs optimales, moyennes ou négatives, les corrélations, etc. On fera mention, si nécessaire, des sources d'erreur. La règle fondamentale ou règle cardinale du témoignage scientifique suivie dans la présentation des résultats est de donner tous les faits se rapportant à la question de recherche concordant ou non avec le point de vue du scientifique et d'indiquer les relations imprévues pouvant faire de l'article un sujet plus original que l'hypothèse initiale. Il ne faut jamais entremêler des descriptions méthodologiques ou des interprétations avec les résultats. Il faut indiquer toujours le niveau de signification statistique de tout résultat. Tous les aspects de l'interprétation doivent être présents. Pour l'interprétation des résultats il faut tirer les conclusions propres après l'analyse des résultats. Les résultats négatifs sont aussi intéressants en recherche que les résultats positifs. Il faut confirmer ou infirmer ici les hypothèses de recherches.

## Discussion

C'est l'établissement d'un pont entre l'interprétation des résultats et les travaux antérieurs. C'est la recherche de biais. C'est l'intégration des nouvelles connaissances tant théoriques que pratiques dans le domaine étudié et la différence de celles déjà existantes. Il faut éviter le piège de mettre trop en évidence les travaux antérieurs par rapport aux résultats propres. Les résultats obtenus doivent être interprétés en fonction des éléments indiqués en introduction (hypothèses posées, résultats des recherches antérieures, objectifs). Il faut discuter ses propres résultats et les comparer à des résultats de la littérature scientifique. En d'autres termes c'est de faire les relations avec les travaux antérieurs. Il est nécessaire de dégager les implications théoriques et pratiques, puis d'identifier les besoins futurs de recherche. Au besoin, résultats et discussion peuvent aller de pair.

## Résultats et Discussion

En optant pour **résultats et discussions** alors les deux vont de pair au fur et à mesure. Ainsi, il faut la discussion après la présentation et l'interprétation de chaque résultat. Tous les aspects de l'interprétation, du commentaire et de la discussion des résultats doivent être présents. Avec l'expérience, on y parvient assez aisément.

## Conclusion

Il faut une bonne et concise conclusion étendant les implications de l'étude et/ou les suggestions. Une conclusion fait ressortir de manière précise et succincte les faits saillants et les principaux résultats de l'article sans citation bibliographique. La conclusion fait la synthèse de l'interprétation scientifique et de l'apport original dans le champ scientifique concerné. Elle fait l'état des limites et des faiblesses de l'étude (et non celles de l'instrumentation mentionnées dans la section de méthodologie). Elle suggère d'autres avenues et études permettant d'étendre les résultats ou d'avoir des applications intéressantes ou d'obtenir de meilleurs résultats.

## Références bibliographiques

La norme Harvard et la norme Vancouver sont les deux normes internationales qui existent et régulièrement mises à jour. Il ne faut pas mélanger les normes de présentation des références bibliographiques. En ce qui concerne le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB), c'est la norme Harvard qui a été choisie. Les auteurs sont responsables de l'orthographe des noms cités

dans les références bibliographiques. Dans le texte, les publications doivent être citées de la manière suivante : Sinsin (2020) ou Sinsin et Assogbadjo (2020) ou Sinsin *et al.* (2007). Sachez que « *et al.* » est mis pour *et alteri* qui signifie et autres. Il faut s'assurer que les références mentionnées dans le texte sont toutes reportées par ordre alphabétique dans la liste des références bibliographiques. Somme toute dans le BRAB, selon les ouvrages ou publications, les références sont présentées dans la liste des références bibliographiques de la manière suivante :

#### Pour les revues scientifiques :

- ✓ **Pour un seul auteur** : Yakubu, A., 2013: Characterisation of the local Muscovy duck in Nigeria and its potential for egg and meat production. *World's Poultry Science Journal*, 69(4): 931-938. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0043933913000937>
- ✓ **Pour deux auteurs** : Tomasz, K., Juliusz, M. K., 2004: Comparison of physical and qualitative traits of meat of two Polish conservative flocks of ducks. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 47(4): 367-375.
- ✓ **A partir de trois auteurs** : Vissoh, P. V., R. C. Tossou, H. Dedehouanou, H. Guibert, O. C. Codjia, S. D. Vodouhe, E. K. Agbossou, 2012 : Perceptions et stratégies d'adaptation aux changements climatiques : le cas des communes d'Adjohoun et de Dangbo au Sud-Est Bénin. *Les Cahiers d'Outre-Mer N° 260*, 479-492.

#### Pour les organismes et institutions :

- ✓ FAO, 2017. L'État de la sécurité alimentaire et de la nutrition dans le monde 2017 : Renforcer la résilience pour favoriser la paix et la sécurité alimentaire. Rome, FAO. 144 p.
- ✓ INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique), 2015 : Quatrième Recensement Général de la Population et de l'Habitation (RGPH-4): Résultats définitifs. Direction des Etudes Démographiques, Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique, Cotonou, Bénin, 33 p.

#### Pour les contributions dans les livres :

- ✓ Whithon, B.A., Potts, M., 1982: Marine littoral: 515-542. *In*: Carr, N.G., Whithon, B.A., (eds), *The biology of cyanobacteria*. Oxford, Blackwell.
- ✓ Annerose, D., Cornaire, B., 1994 : Approche physiologique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées pour l'amélioration de la production en zones sèches: 137-150. *In* : Reyniers, F.N., Netoyo L. (eds.). *Bilan hydrique agricole et sécheresse en Afrique tropicale*. Ed. John Libbey Eurotext. Paris.

#### Pour les livres :

- ✓ Zryd, J.P., 1988: Cultures des cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques. Presses Polytechniques Romandes, Lausanne, Suisse.
- ✓ Stuart, S.N., R.J. Adams, M.D. Jenkins, 1990: Biodiversity in sub-Saharan Africa and its islands. IUCN-The World Conservation Union, Gland, Switzerland.

#### Pour les communications :

- ✓ Vierada Silva, J.B., A.W. Naylor, P.J. Kramer, 1974: Some ultrastructural and enzymatic effects of water stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves. *Proceedings of Nat. Acad. Sc. USA*, 3243-3247.
- ✓ Lamachere, J.M., 1991 : Aptitude du ruissellement et de l'infiltration d'un sol sableux fin après sarclage. Actes de l'Atelier sur Soil water balance in the Sudano-Sahelian Zone. Niamey, Niger, IAHS n° 199, 109-119.

#### Pour les abstracts :

- ✓ Takaiwa, F., Tnifuji, S., 1979: RNA synthesis in embryo axes of germination pea seeds. *Plant Cell Physiology abstracts*, 1980, 4533.

#### Thèse ou mémoire :

- ✓ Valero, M., 1987: Système de reproduction et fonctionnement des populations chez deux espèces de légumineuses du genre *Lathyrus*. PhD. Université des Sciences et Techniques, Lille, France, 310 p.

Pour les sites web : <http://www.iucnredlist.org>, consulté le 06/07/2007 à 18 h.

### Equations et formules

Les équations sont centrées, sur une seule ligne si possible. Si on s'y réfère dans le texte, un numéro d'identification est placé, entre crochets, à la fin de la ligne. Les fractions seront présentées sous la forme « 7/25 » ou « (a+b)/c ».

### Unités et conversion

Seules les unités de mesure, les symboles et équations usuels du système international (SI) comme expliqués au chapitre 23 du Mémento de l'Agronome, seront acceptés.

### Abréviations

Les abréviations internationales sont acceptées (OMS, DDT, etc.). Le développé des sigles des organisations devra être complet à la première citation avec le sigle en majuscule et entre parenthèses (FAO, RFA, IITA). Eviter les sigles reconnus localement et inconnus de la communauté scientifique. Citer complètement les organismes locaux.

### Nomenclature de pesticides, des noms d'espèces végétales et animales

Les noms commerciaux seront écrits en lettres capitales, mais la première fois, ils doivent être suivis par le(s) nom(s) communs(s) des matières actives, tel que acceptés par « International Organization for Standardization (ISO) ». En l'absence du nom ISO, le nom chimique complet devra être donné. Dans la page de la première mention, la société d'origine peut être indiquée par une note en bas de la page, p.e. PALUDRINE (Proguanil). Les noms d'espèces animales et végétales seront indiqués en latin (genre, espèce) en italique, complètement à la première occurrence, puis en abrégé (exemple : *Oryza sativa* = *O. sativa*). Les auteurs des noms scientifiques seront cités seulement la première fois que l'on écrira ce nom scientifique dans le texte.

### Tableaux, figures et illustrations

Chaque tableau (avec les colonnes rendus invisibles mais seules la première ligne et la dernière ligne sont visibles) ou figure doit avoir un titre. Les titres des tableaux seront écrits en haut de chaque tableau et ceux des figures/photographies seront écrits en bas des illustrations. Les légendes seront écrites directement sous les tableaux et autres illustrations. En ce qui concerne les illustrations (tableaux, figures et photos) seules les versions électroniques bien lisibles et claires, puis mises en extension jpeg avec haute résolution seront acceptées. Seules les illustrations dessinées à l'ordinateur et/ou scannées, puis les photographies en extension jpeg et de bonne qualité donc de haute résolution sont acceptées.

Les places des tableaux et figures dans le texte seront indiquées dans un cadre sur la marge. Les tableaux sont numérotés, appelés et commentés dans un ordre chronologique dans le texte. Ils présentent des données synthétiques. Les tableaux de données de base ne conviennent pas. Les figures doivent montrer à la lecture visuelle suffisamment d'informations compréhensibles sans recours au texte. Les figures sont en Excell, Havard, Lotus ou autre logiciel pour graphique sans grisés et sans relief. Il faudra fournir les données correspondant aux figures afin de pouvoir les reconstruire si c'est nécessaire.



## Genetic diversity and phylogeny of wild cowpea [*Vigna unguiculata* L. (Walp)] accessions using Simple Sequence Repeat Markers (SSR)

A. J. C. Quenum<sup>1, 2, \*</sup>, A. Bodian<sup>2</sup>, D. Foncéka<sup>2</sup>, N. Cissé<sup>2</sup>, I. Diédhiou<sup>3, 4</sup>, S. Diallo<sup>4</sup>, D. Diouf<sup>4</sup> and M. S. Mbaye<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MSc. Allonoumi Jodelle Conceptia QUENUM, Laboratoire de Botanique Biodiversité, Département de Biologie Végétale (DBV), Faculté des Sciences et Techniques (FST), Université Cheikh Anta-DIOP (UCAD), B.P.5005 Dakar-Fann, E-mail : [allonoumi14@gmail.com](mailto:allonoumi14@gmail.com), Tél. :00221 78 633 87 67 Sénégal  
Pr. Dr. Mame Samba MBAYE, Laboratoire de Botanique Biodiversité, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques (FST/UCAD), B.P.5005 Dakar-Fann, E-mail : [mame.mbaye@ucad.edu.sn](mailto:mame.mbaye@ucad.edu.sn), Sénégal

<sup>2</sup>Dr. Amy BODIAN, Centre d'Etude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS), Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA), BP 3320, Thiès Escale, Thiès-Sénégal, E-mail : [miamybo@yahoo.fr](mailto:miamybo@yahoo.fr), Tél : +221 33 951 49 94/93, Sénégal

Dr. Daniel FONCEKA, ISRA/CERAAS, BP 3320, Thiès Escale, Thiès-Sénégal, E-mail : [daniel.fonceka@cirad.fr](mailto:daniel.fonceka@cirad.fr), Tél : +221 33 951 49 94/93, Sénégal

Dr.Ndiaga CISSÉ, ISRA/CERAAS, BP 3320, Thiès Escale, Thiès-Sénégal, E-mail : [ndiagacisse52@gmail.com](mailto:ndiagacisse52@gmail.com), Tél : +221 33 951 49 94/93, Sénégal

<sup>3</sup>Dr.Issa DIEDHIYOU, Laboratoire Commun de Microbiologie, Institut de Recherche et de Développement, BP : 1386, Dakar, E-mail : [diedhiouissa@yahoo.fr](mailto:diedhiouissa@yahoo.fr); [issa.diedhiou@ird.fr](mailto:issa.diedhiou@ird.fr), Sénégal.

<sup>4</sup> Sara DIALLO, Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales (LCBV/DBV/FST/UCAD), Dakar Fann, E-mail : [sara1.diallo@ucad.edu.sn](mailto:sara1.diallo@ucad.edu.sn), Sénégal

Pr. Dr. Diaga DIOUF, LCBV/DBV/FST/UCAD, Dakar Fann, E-mail : [diaga.diouf@ucad.edu.sn](mailto:diaga.diouf@ucad.edu.sn), Sénégal

\*Correspondence: MSc. Allonoumi Jodelle Conceptia Quenum, E-mail : [allonoumi14@gmail.com](mailto:allonoumi14@gmail.com)

### Abstract

Cowpea is a highly nutritious grain legume mainly produced in low altitude tropical zones in West African regions. Despite its nutritional importance and high nitrogen content for soil improvement, the production of cowpeas faces many constraints including drought, low yield and diseases and pests' attacks. The objective of this study was to assess the genetic diversity of wild cowpea accessions to improve cultivated varieties. A total of 34 accessions from diverse geographical locations in Africa were assessed. To characterize the accessions, 61 microsatellite markers were used from which 19 markers were found to be polymorphic. A total of 64 alleles were observed with an average of 3.368 per locus. The analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that genetic variation between and within subspecies was 37% and 49%, respectively. The accessions were structured into six populations according to the subspecies with a fixation index ( $F_{st}$ ) of 0.199 ( $p \leq 0.001$ ) and a strong differentiation between the accessions within the populations. Principal coordinate analysis (PCoA) showed a random distribution of accessions and phylogenetic analysis classified the accessions into three genetic groups. The variability and diversity exist between the wild accessions of cowpea. The wild cowpeas are important in breeding and conservation programs.

**Key words:** Wild relatives, structuration, DNA, polymorphism.

### Diversité génétique et phylogénie des accessions sauvages du niébé [*Vigna unguiculata* L. (Walp)] à l'aide des marqueurs (SSR)

#### Résumé

Le niébé est une légumineuse à graines hautement nutritive et principalement produite dans les zones tropicales de basse altitude des régions d'Afrique de l'Ouest. Malgré son importance nutritionnelle et sa forte teneur en azote pour l'amélioration des sols, la production de niébé est confrontée à de nombreuses contraintes, notamment la sécheresse, les maladies et les attaques de ravageurs. L'objectif de l'étude était d'évaluer la diversité génétique des accessions sauvages de niébé afin d'améliorer les variétés cultivées. Au total, 34 accessions provenant de divers sites géographiques en Afrique ont été évaluées. Pour caractériser les accessions, 61 marqueurs microsatellites ont été utilisés dont 19 s'étaient révélés polymorphes. Au total, 64 allèles ont été observés avec une moyenne de 3,368 allèles par locus. L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a révélé que la variation génétique entre et au sein des sous-espèces était de 37% et 49%, respectivement. Les accessions ont été structurées en six populations selon les sous-espèces avec un indice de fixation ( $F_{st}$ ) de 0,199 ( $p \leq 0,001$ ) et une forte différenciation entre les accessions au sein des populations. L'Analyse des Coordonnées Principales (PCoA) a montré une distribution aléatoire des accessions et l'analyse phylogénétique a classé les accessions en trois groupes génétiques. La variabilité et la diversité existent entre les accessions sauvages du niébé. L'importance du niébé sauvage est démontrée dans les programmes de sélection et de conservation.

**Mots clés :** Parents sauvages, structuration, ADN, polymorphisme.

## Introduction

Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] is an important food legume in developing countries of the tropics and subtropics, especially in sub-Saharan Africa, Asia, and Central and South America (Ouedraogo *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2014; Lonardi *et al.*, 2019). Cowpea originated from Africa and is mainly produced in West Africa where its wild progenitor is adapted to any environment (Takahashi *et al.*, 2016). The most cultivated cowpea comes from the subspecies *unguiculata* which is divided into five groups of cultivars, known as *unguiculata*, *sesquipedalis*, *Textilis*, *Biflora*, and *Melanophthalmus* (Badiane *et al.*, 2014).

The subspecies *unguiculata* also includes all domesticated species (*var. unguiculata*), wild and weedy forms (*var. spontanae*) (Pasquet, 1993). Cowpea is a diploid plant ( $2n = 22$  chromosomes). The size of the genome of cowpea is estimated between 620 Mb (Chen *et al.*, 2007) and 640.6 Mb (Lonardi *et al.*, 2019). Cowpea is commonly cultivated as a nutritious and highly palatable food source. The seed is reported to contain 24% crude protein, 53% carbohydrates, and 2% fat (Akpavi *et al.*, 2008). In 2020, the average production of cowpea worldwide was estimated at 6.57 million tons on a harvested area of 12.4 million hectares with an average yield of 0.53 t/ha (FAOSTAT, 2020). In Sub-Saharan Africa, West Africa accounts for 80% of total regional production for 14 consecutive years (Huynh *et al.*, 2016). In Senegal, total cowpea production is estimated at 253,897 kg/ha per year over an area of 289,895 ha with a yield of 876 kg/ha. This production represents 24% of food crops (ANSD, 2021) in the country. The low yield in farmer fields is caused by biotic constraints (mainly viruses, bacteria, fungi, nematodes, insects) and abiotic (drought, salinity, heat) which lead to yield losses between 50 and 95% (Kouadio *et al.*, 2007). As a result, several approaches ranging from natural selection to genome editing have been used to improve yields in plant (Sedeek *et al.*, 2019). These approaches require prior polymorphism studies to create new high-performing varieties with a genetic diversity allowing them to adapt to environmental changes. For this purpose, different molecular markers were used including RAPD and ISSR (GHALMI, 2011), RAPD (Diouf and Hilu, 2005), AFLP (Coulibaly *et al.*, 2002), Chloroplastic DNA and isozymes (Pasquet *et al.*, 2021), SSR microsatellites (Sarr *et al.*, 2021; Gore *et al.*, 2022), SNP (Xiong *et al.*, 2016; Desalegne *et al.*, 2017) and DArT (Gbedevi *et al.*, 2021) to analyse the diversity of cowpea populations. However, few studies have been carried out on the genetic diversity of the wild progenitor of cultivated forms. An intraspecific classification of these forms is first carried out by (Pasquet, 1993) from morphological parameters and isozymes (Pasquet, 1999). A few years later, a study on the evolution of cowpea was carried out by (Kouadio *et al.*, 2007) from chloroplast DNA. This marker being very old works well with matK-trnK (between species) and the complete sequence (within a species). However, microsatellites markers have a high polymorphism, easily reproducible, are codominant and give more precision than previously used markers to assess genetic diversity in wild cowpea (Wang *et al.*, 2008). Cross compatible wild accessions of cowpea could be sources of desirable genes needed by breeders for the development of cowpea varieties with resistance to some of the biotic and abiotic stresses limiting grain yield. An assessment of the extent of diversity existing in wild cowpea relatives especially at the DNA level should be helpful in providing insight into the potential usefulness of these materials. This study assessed the genetic diversity among wild cowpea based on SSR polymorphism. The objective of the study was to characterize the wild cowpea collection using SSR molecular markers for the improvement of cultivated varieties and for long-term conservation purposes. More specifically, the study aimed at (i) assessing the intraspecific genetic variability of wild accessions of cowpea, (ii) determining their genetic structure and (iii) defining their phylogenetic relationships.

## Material and Methods

### Plant material

The plant material was composed of 34 cowpea accessions (33 wilds and 1 cultivated) of which 30 were preserved in Belgium and 4 in Senegal. Accessions were chosen in order to get 2-3 accessions per subspecies or group when subspecies were split between groups as in subsp. *tenuis*, subsp. *protracta* or subsp. *unguiculata* var. *spontanea*. These accessions were from 13 African countries (Zimbabwe, Kenya, Tanzania, Ghana, Cameroon, Liberia, Burundi, Gabon, Botswana, South Africa, Angola, Congo, Malawi, Mozambique and from Senegal). Each individual was classified according to its subspecies (Table 1). These accessions are available at Meise Botanical Jardin (Belgium, <http://www.br.fgov.be/research/collections/living/phaseolus/>) and from the gene bank maintained at the International Institute of Tropical Agriculture (IITA) at Ibadan, Nigeria, (<https://www.iita.org/research/genetic-resources/>) and used in other studies.

Table 1. List of wild cowpeas showing their accession numbers and origin

Subspecies	Names of accessions	Origin
pawekiae	MT53; SP200; SP575	Zimbabwe; Kenya ;Tanzanie
baoulensis	NI933; SP36; SP170	Ghana; Cameroun; Libreville
letouzeyi	NI456; SP95; SP403	Burundi; Cameroun; Gabon
kgalagadiensis	MT546; MT593	Botswana
stenophylla	SP196; SP309;	Afrique du Sud
protracta	SP302; SP313; 322	Afrique du Sud
alba	SP74; SP144	Angola; Congo
tenuis	(SP363; SP167; SP304); MT340; SP73	South of Africa; Malawi; Zimbabwe
pubescens	NI979; NI1029	Kenya;Tanzanie
spontanea_BWA	NI817; SP143	Zimbabwe; Angola
spontanea_IOCP	SP141; SP219; SP582	Mozambique; Kenya;Tanzanie
spontanae	SP595; SN51; SN19	Senegal
unguiculata	Melakh	Senegal

Spontanae IOCP: is classified in Indian Ocean Coastal Plain group

### DNA Isolation and Genotyping

Before the DNA extraction, the seeds were sown in pots placed in the greenhouse at the Institute of Research for Development (IRD) in Dakar (bel-air). The genomic DNA was extracted from fresh leaf samples of 21 day-old-plants. Each sample was collected and then deposited in a 1.5 ml Eppendorf tube. Tubes were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C prior to DNA extraction. This was carried out following the protocol of MATAB (Mixed Alkyl Trimethyl Ammonium Bromide) (Risterucci *et al.*, 2000). Genomic DNA from each accession was diluted to a concentration of 5 ng/μl. The quality and quantity of DNA were checked by electrophoresis (DNA migration) on a 1% (w/v) agarose gel. The DNA concentration was estimated by comparing the bands obtained with those of a marker size (Smart Ladder) with known concentrations.

To analyse genetic diversity, 61 of microsatellite markers available at the 'Centre d'Etude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse' (CERAAS) was screened to identify fewer polymorphic markers. The choice of markers was made based on previous studies of cowpea genetic diversity (Andargie *et al.*, 2011; Sarr *et al.*, 2021). We therefore used markers less polymorphic in cultivated cowpea to obtain a restricted phylogenetic tree (synoptic table in annexe).

Then, 19 SSRs were selected to perform the PCR amplification in a total volume of 10 μl. Each reaction mix contained 25 ng of DNA, 1X of PCR buffer, 0.1U/μl of Taq DNA polymerase, 1 mM of MgCl<sub>2</sub>, 200 μM of dNTPs, 0.1 μM of each primer (sense and antisense) and 0.1 μM of the labelled M13 tail. A negative control (water) was included in the experiment to serve as a PCR control. Amplification was performed using a MWG AG biotech 96-block thermal cycler according to the following program: 4 min of initial denaturation at 94 °C; followed by 35 cycles of denaturation amplification (94 °C, 1 min); primer annealing (55 °C, 1 min) and extension (72 °C, 1 min 15 s); one cycle of a final extension at 72 °C for 7 min. The PCR products were separated by a 6.5% (w/v) acrylamide denaturing gel on the Licor 4300 sequencer (LICOR Inc., NE, USA). The PCR products were excited by laser diodes at two different wavelengths (682 and 782 nm). An infrared camera detected the signals and the images were automatically saved and uploaded to a database before performing statistical analysis.

### Diversity Analysis and Genetic Parameter Estimation

Data were checked with XnView 3.13 software. Alleles were coded in ascending order on a scale from 1 to 8. The allele with the smallest size for each individual was coded by the number 1. Missing data was represented by a zero (0). The structure of genetic diversity was assessed by estimating basic statistics considering each subspecies as a population. The genetic structure of the population was estimated using the software STRUCTURE (Pritchard, 2000). The number of alleles, genetic diversity (Nei, 1978), analysis of molecular variance (AMOVA), fixation index (F<sub>st</sub>) were calculated using GenAlex 6.503 software (Peakall, 2012). The PIC was obtained from Power Marker software (Liu and Muse, 2005). The STRUCTURE analysis was performed with ancestral populations K ranging from 1 to

10. We used 700,000 iterations and a run-in period of 500,000; 10 runs for each K value were performed. Outputs were summarized using Structure Harvester software (Earl, 2012). We evaluated the number of population K according to the method of Evanno (Evanno, 2005). For each K, only the replicate with the lowest variance was retained. We classified individuals into groups based on an assignment coefficient of 0.6. The similarity dendrogram was produced in Darwin 6.0.2.1 software (Sodédji *et al.*, 2021) using the Neighbour-joining method. Bootstrap values represented a percentage of 200 replicates. The Fst differentiation indices were determined using the following criteria from Wright in 1978.

## Results

### Genetic diversity and Polymorphism

Sixty-one microsatellite markers were used to characterize the genetic diversity of 33 wild cowpea accessions and one Melakh accession. Nineteen markers were found to be polymorphic with a number of alleles varying from two to eight out of a total of 64 alleles observed for an average of 3.368 per locus. Eight markers; SSR6223, SSR6322, SSR6225, SSR6212, SSR6860, SSR6276, SSR6222 and SSR6205 had the lowest number of alleles (2) while SSR6193 had the highest (8). The expected heterozygosity (He) ranged from 0 to 0.377 with an average of 0.107 while the observed heterozygosity (Ho) varied from 0 to 0.597 with an average of 0.057. Heterozygosity (Ho=0) was observed for 13 markers while the highest heterozygosity (Ho=0.597) was recorded with SSR6223 marker (Table 2). The molecular markers showed polymorphisms between 0% (*pubescens*) and 46.5% (*Tenuis*) with an average of 17.75%.

Table 2. Polymorphism of molecular markers

Markers	Major allele frequency (%)	Number of alleles	He	Ho
SSR6223	0.514	2	0.377	0.597
SSR6322	0.857	2	0.000	0.000
SSR6225	0.885	2	0.098	0.179
SSR6246	0.485	3	0.000	0.000
SSR6212	0.914	2	0.000	0.000
SSR6209	0.757	3	0.126	0.115
SSR6189	0.857	3	0.000	0.000
SSR6191	0.828	3	0.000	0.000
SSR6924	0.642	6	0.229	0.064
SSR6860	0.942	2	0.000	0.000
SSR6193	0.571	8	0.000	0.000
SSR6276	0.971	2	0.000	0.000
SSR6274	0.457	5	0.081	0.026
SSR6674	0.8	3	0.000	0.000
SSR6222	0.6	2	0.000	0.000
SSR6205	0.971	2	0.000	0.000
SSR6920	0.671	5	0.174	0.092
SSR6229	0.914	3	0.000	0.000
SSR-6619	0.685	6	0.000	0.000
<b>Mean</b>	<b>0.755</b>	<b>3.368</b>	<b>0.107</b>	<b>0.057</b>

He: expected heterozygosity; Ho: observed heterozygosity.

Regarding the polymorphism of the subspecies, the number of alleles varied between 26 (*pubescens*) and 38 (*tenuis*). The expected heterozygosity rate (He) was very low and varied from 0 for the *pubescens* subspecies to 0.172 for the *tenuis* subspecies with an average of 0.078 while the observed heterozygosity (Ho) varied from 0 (*baoulensis* and *pubescens*) to 0.115 (*var. unguiculata*) with an average of 0.041 (Table 3).

Table 3. Size; number of alleles; heterozygoty and polymorphism of the Subspecies

Subspecies	Size	N/A	He	Ho	%P
<i>pawekiae</i>	3	30	0.066	0.019	15.38
<i>baoulensis</i>	3	28	0.034	0.000	7.69
<i>letouzeyi</i>	3	34	0.130	0.013	26.92
<i>kgalagadiensis</i>	2	31	0.091	0.058	19.23
<i>stenophylla</i>	2	31	0.087	0.077	19.23
<i>protracta</i>	3	33	0.103	0.026	23.08
<i>alba</i>	2	28	0.029	0.038	7.69
<i>tenuis</i>	5	38	0.172	0.031	46.15
<i>pubescens</i>	2	26	0.000	0.000	0.00
<i>spontanae_BWA</i>	2	29	0.053	0.019	11.54
<i>spontanae_IOCP</i>	3	32	0.088	0.064	19.23
<i>spontanae</i>	3	32	0.107	0.077	23.08
<i>var. unguiculata</i>	1	28	0.058	0.115	11.54

**Size:** number of individuals in each population; **N/A.:** number of alleles per population; **%P:** percentage of polymorphism; **He:** expected heterozygosity; **Ho:** observed heterozygosity.

Genetic fixation index ( $F_{st}$ ) between subspecies ranged from 0.140 to 0.871 (Table 4). The accessions belonging to the subspecies *tenuis*, *spontanae\_IOCP* and *alba* showed a moderate differentiation while those of the subspecies *protracta*, *stenophylla*, *kgaladiensis*, *letouzeyi*, *baoulensis* and *pawekiae* showed high differentiation based on the criteria of Wright (1978). The  $F_{st}$  between the accessions of *baoulensis* and *pubescens* ( $F_{st}=0.871$ ) was very high (Table 4). The  $F_{st}$  between the accession of *tenuis* and *spontanae\_IOCP* ( $F_{st}=0.140$ ) was moderate. All the  $F_{st}$  values were significant ( $p$ -value < 0.05).

Table 4. Pairwise Fst value of subspecies

Variables	<i>pawekiae</i>	<i>baoulensis</i>	<i>letouzeyi</i>	<i>kgalagadiensis</i>	<i>Stenophylla</i>	<i>protracta</i>	<i>alba</i>	<i>tenuis</i>	<i>pubescens</i>	<i>spontanae_BWA</i>	<i>spontanae_IOCP</i>	<i>spontanae</i>	<i>unguiculata</i>
<i>pawekiae</i>	0.000												
<i>baoulensis</i>	0.668	0.000											
<i>letouzeyi</i>	0.484	0.597	0.000										
<i>kgalagadiensis</i>	0.441	0.505	0.487	0.000									
<i>stenophylla</i>	0.330	0.507	0.489	0.277	0.000								
<i>protracta</i>	0.407	0.492	0.361	0.353	0.304	0.000							
<i>alba</i>	0.563	0.731	0.555	0.535	0.411	0.369	0.000						
<i>tenuis</i>	0.265	0.360	0.343	0.274	0.160	0.192	0.147	0.000					
<i>pubescens</i>	0.750	0.871	0.649	0.674	0.587	0.589	0.686	0.269	0.000				
<i>spontanae_BWA</i>	0.594	0.663	0.544	0.520	0.439	0.408	0.332	0.173	0.615	0.000			
<i>Spontanae_IOCP</i>	0.450	0.520	0.412	0.406	0.309	0.263	0.147	0.140	0.457	0.266	0.000		
<i>spontanae</i>	0.548	0.549	0.447	0.477	0.454	0.336	0.462	0.267	0.563	0.473	0.320	0.000	
<i>unguiculata</i>	0.643	0.710	0.551	0.626	0.560	0.451	0.631	0.348	0.778	0.630	0.442	0.318	0.000

Using the matrix of distances for genetic differentiations, a molecular analysis of variance (AMOVA) was performed using the distance matrix to analyze genetic differences between subspecies. The overall genetic variation was 37% between subspecies, 49% between individuals within subspecies and 14% between all individuals (Table 5). These results showed that the diversity within subspecies was higher than diversity between subspecies. The average genetic differentiation index was 0.372 ( $p \leq 0.001$ ) indicating a genetically different population (Table 5).

Table 5. Molecular analysis of variance of accessions.

Source of variation	df	Square sum	Estimated variance	Genetic variation (%)	Fst
Between populations	12	136.729	1.364	37	0.372
Between individuals	22	90.300	1.802	49	
Within individuals	35	17.500	0.500	14	
Total	69	244.529	3.667	100	

d.f. degree of freedom,  $p \leq 0.001$ ; Nm (gene flow) = 0.422

### Population structure

The analysis of the structure of the cowpea collection, according to the Evanno method, revealed a peak at K equal to six. This suggested the presence of six main populations (P1, P2, P3, P4, P5 and P6) in the collection (Figure 1).

- population 1 (P1) includes *protacta* accessions SP313 and SP 322, SP309 and SP363 belonging to the *stenophylla* and *tenuis* subspecies, respectively;
- population 2 (P2) included accessions SP595, SN19, SN51 and Melakh belonging to the *spontanae*, *unguiculata* subspecies respectively and one Admixture (SP582), *spontanae\_IOCP* subspecies;
- population 3 (P3) was composed of SP95, NI456 and SP403 belonging to the *letouzeyi* subspecies;
- population 4 was made up of accessions NI933, SP36 and SP170 belonging to the *baoulensis* subspecies;
- population 5 contained MT53, SP200 and SP575 of the *pawekiae* subspecies, MT546 and MT593 of *kgalagadiensis*, SP196 and SP302 belonging to the *stenophylla* and *protacta* subspecies respectively;
- population 6 included accessions SP74 and SP144 of the *alba* subspecies, SP167, SP304, MT340 and SP73 of the *Tenuis* subspecies, NI979 and NI1029 of the *pubescens* subspecies, NI817 and SP143 of the annual subspecies and finally individuals SP141 and SP209 of the perennial subspecies.

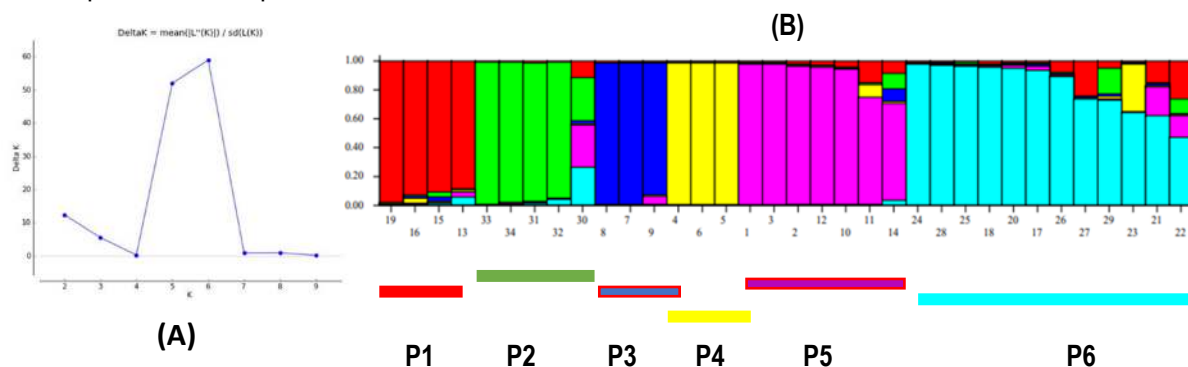


Figure 1. Population structure: (A)  $\Delta K$ , Probability of subdivision into genetic groups according to the calculation method of Evanno *et al.* (2005). (B) Estimation of the cowpea population subdivided into six (6) populations represented with different colours deduced by the structure analysis.

The average value of alleles observed (Na) in the six populations varies between 33 and 45. The lowest (0.846) and highest (0.935) values of allele frequency were recorded in populations P2 and P4, respectively. It ranged from 0.109 (P3) to 0.198 (P2) with an average of 0.150. The PIC varied from 0.066 (P4) to 0.167 (P6) with an average of 12.11%. The percentage of polymorphic loci within the populations varied from 26.92 (P3) and 42.31% (P6) (Table 6).

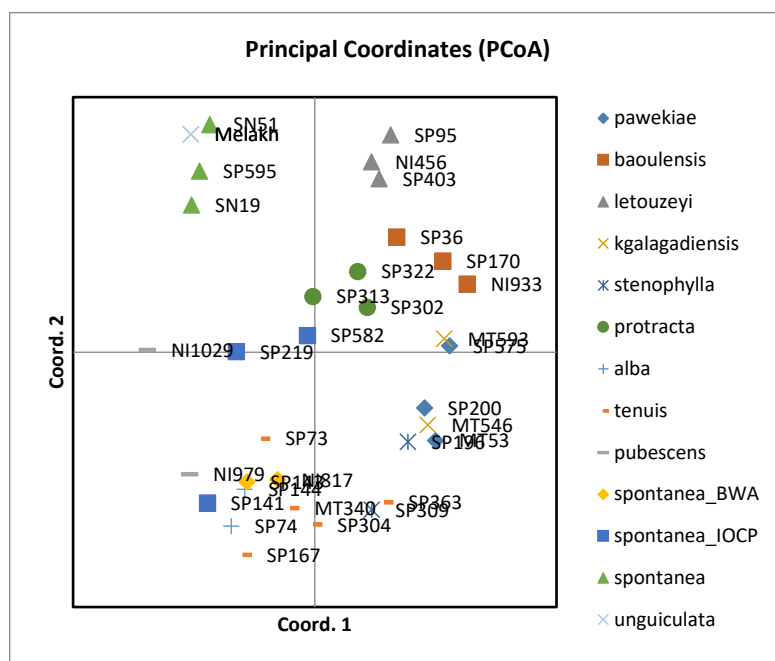
**Table 6. Major allele frequency, Number of alleles, Heterozygoty, Polymorphism Information Content and Polymorphism percent of populations**

Pop	Major Allele frequency	N.a	Ho	He	PIC	%P
P1	0.908	36	0.013	0.145	0.095	30.77
P2	0.846	40	0.008	0.198	0.148	38.46
P3	0.891	33	0.064	0.109	0.103	26.92
P4	0.935	36	0.038	0.139	0.066	30.77
P5	0.868	36	0.027	0.137	0.148	38.46
P6	0.886	45	0.055	0.171	0.167	42.31

PIC: Polymorphism Information Content; %P: Percentage of polymorphism; Pop: population; Ho: Heterozygosity observed; N.a: Number of alleles; He: Heterozygosity expected.

### Clustering of accessions

The principal coordinate analysis revealed relatively different groups of accessions with a cumulative 38.34% of the total variation on the principal coordinate 3. The biplot represented the principal coordinates 1 and 2 explaining 15.50% and 12.79% of the total variation, respectively. All the accessions were close to each other except those of the spontanea\_IOCP subspecies, *pawekiae*, *stenophylla* and *pubescens* (Figure 2).



1) Axis 1 put on the left side *spontanea* and the subspecies rather close to *spontanea* (*pubescens*, *alba*, *tenuis*) and on the right side of the *perennial* subspecies.

2) The "annual" *spontanea* was well grouped and the cultivated form was obviously part of this group. Kind of expected since both were just varieties of the same subspecies. On the other hand, *spontanea* BWA and *spontanea* IOCP came out with the different perennial subspecies

3) The perennial subspecies were well grouped and well separated, at least for *baoulensis*, *letouzeyi* and *protracta*. Then there were recoveries for the subspecies *pawekiae* and *kgalagadiensis*, *stenophylla* and *tenuis*.

**Figure 2. Clustering of the 34 vigna accessions based on principal coordinates analysis (PCoA)**

### Phylogenetic analysis

The genetic dissimilarity tree revealed three main groups of accessions divided into 17, 12 and 5 accessions respectively in G1 (green), G2 (red) and G3 (blue) (Figure 3). Accessions belonging to subspecies, *protracta* and *tenuis* were found in groups 1 and 2. The spontanea\_IOCP subspecies had accessions in groups 2 and 3. Accessions of the spontanea and var. *unguiculata* subspecies were only found in group 3. Subspecies *Pawekiae*, *baoulensis*, *letouzeyi*, *kgalagadiensis*, *stenophylla* were found only in group 1. The majority of accessions in group 2 represented approximately 91% of the accessions of the P6 population. Furthermore, only accessions from Tanzania appeared in the three phylogenetic



groups. Accessions from South Africa, Zimbabwe and Kenya appeared in two groups (G1 and G2) while accessions from other regions (Botswana, Cameroon, Gabon and Burundi) were in group 1 and finally those from Angola and Congo which were in group 2 each belonged to a single group according to their classification.

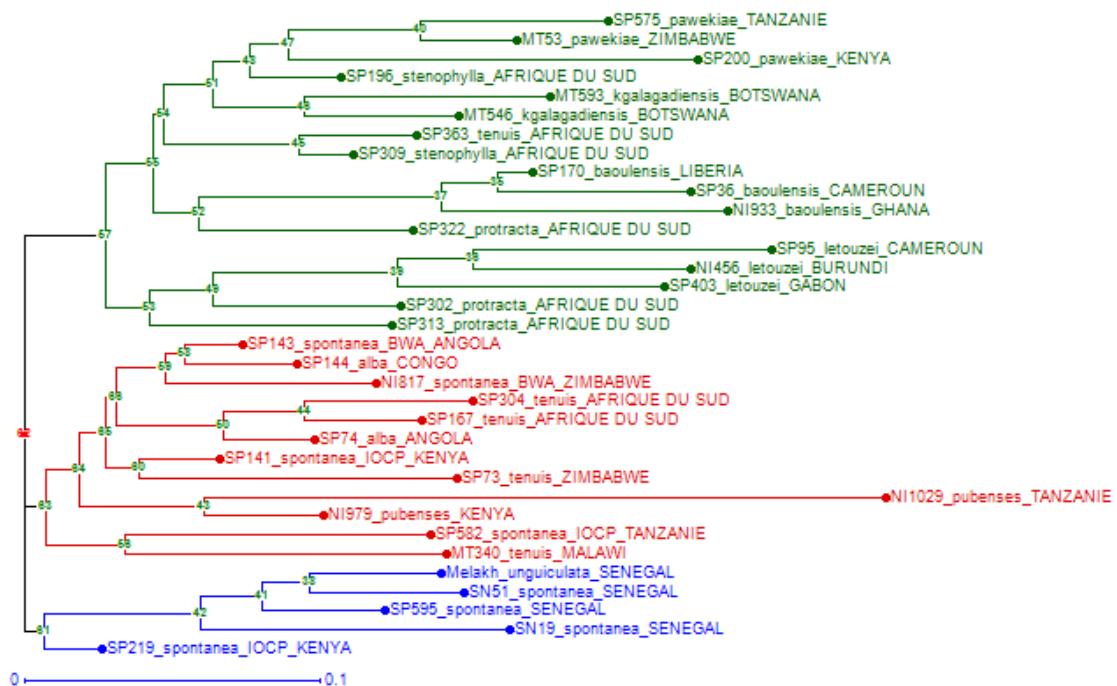


Figure 3. Phylogenetic relationships between accessions

## Discussion

Our study reveals an allelic polymorphism ranging from 2 to 8 per locus. This variation is very small. This finding is consistent with previous findings by several authors who reported that the number of alleles per locus in cowpea varied between 2 and 7 (Li *et al.*, 2001), between 2 and 5 (Desalegne *et al.*, 2016), between 1 and 9 (Diouf and Hilu, 2005), and from 1 and 6 (Asare *et al.*, 2010). However, this value of allelic polymorphism recorded in our study is lower than previous studies in Senegal where high levels of polymorphism from 2 to 15 alleles per locus (Sarr *et al.*, 2021), from 4 and 15 (Desalegne *et al.*, 2017), from 1 and 16 (Badiane *et al.*, 2012) were reported. The average observed polymorphism was 3.368 alleles per locus. This rate is similar to that recorded by (Asare *et al.*, 2010) in Ghana with 3.8 alleles per locus for 141 cowpea accessions using 20 SSR markers. The average polymorphism value in our study is higher than that obtained by Houindé (2018) in Benin with 2.33 alleles per locus while it is lower than that recorded in Senegal by Sarr *et al.* (2021) and in Sudan after an assessment of the genetic diversity of 252 cowpea genotypes from 18 SSRs (Ali *et al.*, 2015). The number of alleles per locus is an important criterion for selecting markers in the study of plant diversity and genetic improvement (Ribeiro-Carvalho *et al.*, 2004). Furthermore, the major allelic frequency per locus varied from 0.457 to 0.971 and from 0.846 to 0.935 per population. These values are similar to those obtained by Gore *et al.* (2022). The number of alleles amplified per locus depends on the markers used and the type of genetic materials studied. Thus, the differences noted in the number of alleles observed by the authors cited above, can be explained by the use of markers, whether polymorphic or monomorphic, or the number of markers used and the type of genetic materials. In this study, the genotypes are wild cowpea individuals. However, the wild forms present a strong genetic variation (Ogunkanmi *et al.*, 2008). Despite the use of less polymorphic or monomorphic markers, polymorphism was high in the tenuis subspecies (46.5%). Individuals of this subspecies have retained their genetic variability (Thomson *et al.*, 2009) which could be exploited in breeding programs to improve domesticated cowpea varieties.

The markers revealed an expected heterozygosity (He) of 10.7% and an observed heterozygosity (Ho) of 5.7%. These values are similar to those of Diouf and Hilu (2005) and Ali *et al.* (2015) who obtained a He of 31% and a Ho of 5% from studies of genetic diversity of cultivated cowpea genotypes. The obtained value of Ho is lower than that of He. This observation is valid for the subspecies where the mean value of Ho is 4.1% and where He is equivalent to 7.8%, whereas it is 3.37% for the populations

(P1 to P6). These differences were observed by (Konan Kouakou *et al.*, 2007) which suggest that the difference between the observed heterozygosity and the expected heterozygosity would certainly be due to the cowpea reproductive system strongly characterized by autogamy or to an evolutionary force, in particular a selection favouring certain genotypes. The mode of reproduction of cowpea (autogamy) could explain the fact that the  $H_o$  values are low. Also, some allogamous subspecies such as *spontanea\_IOCP* (perennials) which, apart from their high rates of floral abscission, produced few seeds and whose fertilization of flowers is improved by hand (Pasquet, 2017). We can also note the accessions of allogamous subspecies (*baoulensis* for example) were interfertilized at each multiplication, which greatly reduces the rate of heterozygosity. In addition, the difference in the origins of the accessions as well as their capacity for resilience could also explain this gap. The value (0) of  $H_e$  in *pubescens* and  $H_o$  in *pubescens* (*savanna* ssp) and *baoulensis* (*forest* ssp) is linked to the types of markers studied and the size of the populations. Moreover, these Heterozygosity values are lower than those obtained by Gbedevi *et al.* (2021) ( $H_e = 31\%$  et  $H_o = 5\%$ ). Indeed, the low average values of the expected heterozygosity suggest a low genetic diversity (Sarr *et al.*, 2021).

The genetic variations between the populations within the subspecies (37%) and within the individuals of the subspecies are (63%). These values of genetic variations between populations are higher than those of Eltaher *et al.* (2018) who observed an 8% variation between populations. The relatively low values in our study also indicate that the accessions of subspecies (*pawekiae* and *letouzei*) have a genetic resemblance and belong to the same genetic group indeed, these subspecies form a monophyletic group. The AMOVA results showed that there was a high diversity between individuals within a population and low diversity between populations. Similar observation was made by (Diouf and Hilu, 2005; Badiane *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2015; Salem and Sallam, 2016; Gore *et al.*, 2022) in cowpea. The low diversity between populations could be due to the dispersal of genes over long distances (Diouf and Hilu, 2005) either through self-pollination. This low diversity is also due to gene flow between seed movements (Dhanapal *et al.*, 2015) because they do not come from the same habitat.

The structuration of populations is essential to understand the genetic diversity of accessions (Eltaher *et al.*, 2018). The wild accessions of our studies are structured into six populations unlike some studies which revealed three populations using SNPs on 274 cowpea genotypes (Sodedji *et al.*, 2020), four subpopulations out of 96 *penesula* cowpea accessions from 51128 SNP markers (Carvalho *et al.*, 2017) and five populations per (Gore *et al.*, 2022). The fact of having six populations can be due to the fact that we used different subspecies. Indeed, accessions of the *baoulensis* subspecies from Ghana (NI933), Cameroon (SP36) and Liberia (SP170) are classified in the P4 population. Similarly, *letouzei* subspecies classified in population 3 had accessions from Burundi (NI456), Cameroon (SP95) and Gabon (SP403). P1, P2, P5 and P6 populations had accessions of different origins.

The subdivision of the populations revealed that the subspecies *protacta*, *stenophylla* and *tenuis* belonging to P1 were from South Africa. The P2 population containing the subspecies of *var. unguiculata*, classic annual and perennial could originate from East Africa. Populations P3, P5 and P6 each include subspecies from East Africa and South Africa except population P4 which includes subspecies *baoulensis* from West and South Africa. This map confirmed the domestication of cowpea according to Huynh *et al.* (2016) in East and South Africa. Moreover Xiong *et al.* (2016) predict cowpea migration and dispersal in West and East Africa. This organization indicates a distribution of subspecies in different regions. For example, the *spontanea\_IOCP* subspecies are distributed from Kenya to Mozambique, the subspecies belonging to P2, is a group from Senegal and Kenya. In addition, the pollination of flowers and demographic pressure could be indicators of the distribution of species in nature according to climatic conditions and their adaptation.

Moreover, the accessions are more structured in subspecies than in regions because accessions of the same species are present in different regions. This is the case of the *pawekiae* species from Kenya and Tanzania or the *alba* species of hybrid origin from Angola and Congo. The subspecies *pawekiae*, is an ancient group that was split with the forests of altitude and each mountain massif began to evolve on its side without connection with the other massifs (unlike *baoulensis* which kept a continuous territory despite the recent forest gap of Togo-Benin). These results show a structuring regardless of geographical origins as indicated by Chen (2015), Gore *et al.* (2022) and Pratap (2015). This structuring could be caused by exchanges of genetic material between different countries (Lestari *et al.*, 2014).

Phylogeny provides an idea of the relationships or kinship links between plant or animal species. However, it is difficult to reconstruct the real history of the evolution of species (Patwardhan *et al.*, 2014). Phylogenetic analysis showed three (3) major groups (G). Group 1 was more diverse as it contained accessions of different subspecies from ten (10) countries while groups 2 and 3 contain accessions from 6 and 2 countries respectively. This result corroborates that of Salem and Sallam (2016) on the analysis

of the structuring and genetic diversity of the genotypes of exotic Egyptian rice, the major group of which includes 3 countries (India, Philippines and Egypt). G1 accessions could be used in breeding programs to improve the genetic diversity of wild cowpea. The *tenuis*, *protacta* and *stenophylla* subspecies in group 1 were from South Africa. These 3 subspecies have the same floristic and foliar characteristics (Padulosi, 1993).

Indeed, the G1 group also presents the subspecies *spontanae\_IOCP* most allogamous: three subspecies (*pawekiae*, *baoulensis* and *letouzeyi*) which are monophyletic (Pasquet, 2017) and a paraphyletic group consisting of subspecies (*protracta*, *kgalagadiensis*, *stenophylla*) and one *tenuis* of hybrid origin closer to its *spontanae\_IOCP* relative than to its *spontanae\_BWA* parent. This confirms that the species *Vigna unguiculata* has its origin in southern Africa (Hunyh *et al.*, 2013; Diouf, 2011; Singh, 2006; Timko *et al.*, 2007). G3 consists of three individuals belonging to the *spontanae* and *unguiculata* subspecies, one individual of *var. unguiculata* from Senegal and one individual of the *spontanae\_IOCP* subspecies from Tanzania. This grouping can be justified by the number of alleles observed at the level of the ssp. *spontanae* Na (32) and *unguiculata* Na (28) or by the effect of pollination and come from Senegal. For example, the *melakh* variety, originally from Senegal, has retained its genetic base (Diouf and Hilu, 2005). In group G2, we have all the groups of hybrid origin: *alba*, *tenuis*, *pubescens*, *spontanea\_BWA* of hybrid origin. These results confirm with a priori nuclear data, the chloroplast phylogeny (Pasquet *et al.*, 2021). The phylogenetic classification also revealed significant genetic distances between *baoulensis*, *letouzeyi* and *pubescens* subspecies. This suggests the importance of SSR markers in establishing genetic relationships between wild cowpea species. *Pawekiae*, *baoulensis*, *letouzeyi* were forest mesemesis group in *Vigna* genus taxonomy study (Pasquet, 2013), by morphological classification several agronomic characters are also classified together based on our study. The subspecies *spontanae* and *var. unguiculata*, *spontanae\_IOCP* and *alba* constitute a separate group (savannah dekindtiana group) with low genetic distance values also show a classification based on SSR.

## Conclusion

The study sheds light on the genetic variability within wild cowpea accessions, their genetic structure and their phylogenetic relationships. Thirty-four (34) accessions from Senegal, Congo, Angola, Cameroon, Tanzania, Burundi, Kenya, Malawi, Botswana, South Africa and Gabon were characterized using 61 microsatellite markers (SSR), 19 of which are found to be polymorphic. A total of 64 alleles was observed with an average of 3.368 per locus. The phylogenetic analysis makes it possible to divide the accessions into three groups. Group 1 is more diversified with three subspecies (*tenuis*, *protacta* and *stenophylla*). These results show the importance of SSR markers in the analysis of the genetic variability of cowpea accessions essential for their genetic improvement through programs of selection and conservation of wild species.

## Author Contributions

Amy BODIAN collected the plant material; Jodelle QUENUM, Ndiaga CISSE and Daniel FONCEKA conceived and designed the experiments; Jodelle QUENUM, Amy BODIAN, performed the DNA genotyping; Jodelle QUENUM, Sara DIALLO, Amy BODIAN analysed the data; Jodelle QUENUM drafted the paper; and Amy BODIAN, Ndiaga Cissé, Daniel FONCEKA, Diaga DIOUF, Issa DIEDHIOU and Sara DIALLO provided a critical review of the manuscript.

## Acknowledgements

We thank Rachelle Djiboune and Elisabeth Diop, staff of CERAAS for their support during the laboratory experiments, Katina Olodo, Awa Saar and Remy Pasquet for their helpful suggestions. We are also very grateful to the anonymous reviewers for their helpful comments.

**Availability of Data and Materials:** Data and materials are available.

## Funding Information

The authors would like to thank the Centre d'Etude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS), for the financial support.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Akpavi, S., A. Chango, K. Tozo, K.S. Amouzou, K. Batawila, K. Wala, K.A. Gbogbo, M. Kanda, K. Kossi-Titrikou, H. Dantsey-Barry, 2008 : Valeur nutrition/santé de quelques espèces de Légumineuses alimentaires mineures au Togo. *Acta botanica gallica* 155:403-414.
- Ali, Z., K. Yao, D. Odeny, M. Kyalo, R. Skilton, I. Eltahir, 2015: Assessing the genetic diversity of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] accessions from Sudan using simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal of Plant Science* 9:293-304.
- Andargie, M., R.S. Pasquet, B.S. Gowda, G.M. Muluvi, M.P. Timko, 2011: Construction of a SSR-based genetic map and identification of QTL for domestication traits using recombinant inbred lines from a cross between wild and cultivated cowpea (*V. unguiculata* (L.) Walp.). *Molecular Breeding* 28:413-420.
- ANSD (Agence Nationale de la Démographie de la Statistiques), 2021 : Dakar Senegal. Bulletin mensuel des statistiques économiques. Issue 221:1-59.
- Asare, A.T., B.S. Gowda, I.K. Galyuon, L.L. Aboagyie, J.F. Takrama, M.P. Timko, 2010: Assessment of the genetic diversity in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) germplasm from Ghana using simple sequence repeat markers. *Plant Genetic Resources* 8:142-150.
- Badiane, F., B. Gowda, N. Cissé, D. Diouf, O. Sadio, M. Timko, 2012: Genetic relationship of cowpea (*Vigna unguiculata*) varieties from Senegal based on SSR markers. *Genet. Mol. Res* 11:292-304.
- Carvalho, M., M. Muñoz-Amatriaín, I. Castro, T. Lino-Neto, M. Matos, M. Egea-Cortines, E. Rosa, T. Close, V. Carnide, 2017: Genetic diversity and structure of Iberian Peninsula cowpeas compared to world-wide cowpea accessions using high density SNP markers. *BMC genomics* 18:1-9.
- Chen, H.Q. L., L. Wang, S. Wang, M.W. Blair, X. Cheng, 2015: Assessment of genetic diversity and population structure of mung bean (*Vigna radiata*) germplasm using EST-based and genomic SSR markers. *Genes* 566:175-183.
- Chen, X., T.W. Laudeman, P.J. Rushton, T.A. Spraggins, M.P. Timko, 2007: CGKB: an annotation knowledge base for cowpea (*Vigna unguiculata* L.) methylation filtered genomic genespace sequences. *BMC bioinformatics* 8:1-9.
- Coulibaly, S., R. Pasquet, R. Papa, P. Gepts, 2002: AFLP analysis of the phenetic organization and genetic diversity of *Vigna unguiculata* L. Walp. reveals extensive gene flow between wild and domesticated types. *Theoretical and applied genetics* 104:358-366.
- Houindé, P., 2018 : Caractérisation génétique des accessions de niébé (*Vigna unguiculata* L. walp) utilisant des marqueurs microsatellites (SSRs), Sécheresse en ligne, <http://www.secheresse.info/> 59 p.
- Desalegne, B.A., K. Dagne, Melaku G., B. Ousmane, C.A. Fatokun, 2017: Efficiency of SNP and SSR-based analysis of genetic diversity, population structure, and relationships among cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) germplasm from East Africa and IITA inbred lines. *Journal of Crop Science and Biotechnology* 20:107-128.
- Desalegne, B.A., S. Mohammed, K. Dagne, M.P. Timko, 2016: Assessment of genetic diversity in Ethiopian cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] germplasm using simple sequence repeat markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 34:978-992.
- Dhanapal, A.P., J.D. Ray, S.K. Singh, V. Hoyos-Villegas, J.R. Smith, L.C. Purcell, C. Andy King, P.B. Cregan, Q. Song, F.B. Fritschi, 2015: Genome-wide association study (GWAS) of carbon isotope ratio ( $\delta^{13}C$ ) in diverse soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] genotypes. *Theoretical and applied genetics* 128:73-91.
- Diouf, D., Hilu, K.W., 2005: Microsatellites and RAPD markers to study genetic relationships among cowpea breeding lines and local varieties in Senegal. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52:1057-1067.
- Earl DAV, B.M., 2012: STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour* 4:359-361.
- Eltaher, S., A. Sallam, V. Belamkar, H.A. Emara, A.A. Nower, K.F. Salem, J. Poland, P.S. Baenziger, 2018: Genetic diversity and population structure of F3: 6 Nebraska winter wheat genotypes using genotyping-by-sequencing. *Frontiers in genetics* 9:76.
- Evanno, G.R.S., Goudet, J., 2005: Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Mol. Ecol.* 14:2611-2620.
- FAOSTAT, 2020: Statistical Data Base. Rome, Italy.. Available online <http://www.fao.org/faostat/en/data> (accessed 7 Sept. 2020:).
- Gbedevi, K.M., O. Boukar, H. Ishikawa, A. Abe, P.O. Ongom, N. Unachukwu I., Rabbi, C. Fatokun, 2021: Genetic Diversity and Population Structure of Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] Germplasm Collected from Togo Based on DArT Markers. *Genes* 12:1451.
- Ghalmi, N., 2011 : Etude de la diversité génétique de quelques écotypes locaux de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivés en Algérie. <http://www.secheresse.info/spip.php?article60591>.

- Gore, P.G., V. Gupta, R. Singh, K. Tripathi, R. Kumar, G. Kumari, L. Madhavan, H.K. Dikshit, K. Venkateswaran, A. Pandey, 2022: Insights into the genetic diversity of an underutilized Indian legume, *Vigna stipulacea* (Lam.) Kuntz., using morphological traits and microsatellite markers. *PLoS One* 17:e0262634.
- Huynh, B-L., W.C. Matthews, J.D. Ehlers, M.R. Lucas, J.R. Santos, A. Ndeve, T.J. Close, P.A. Roberts, 2016: A major QTL corresponding to the Rk locus for resistance to root-knot nematodes in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Theoretical and applied genetics* 129:87-95.
- Konan Kouakou, C., H. Roy-Macauley, G. Coudou, 2007 : Diversité génétique des variétés traditionnelles de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) walp.) au Senegal: etude preliminaire. In: Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion y.
- Kouadio, D., N. Echikh, A. Toussaint, R.S. Pasquet, J-P. Baudoin, 2007 : Organisation du pool génique de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.: croisements entre les formes sauvages et cultivées du niébé. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2007 11 (1), 47–57.
- Lestari, P., S.K. Kim, Y.J. Kang, N. Dewi, S-H. Lee, 2014: Genetic diversity of mungbean (*Vigna radiata* L.) germplasm in Indonesia. *Plant Genetic Resources* 12:S91-S94.
- Li, C.D., C.A. Fatokun, B. Ubi, B.B. Singh, G.J. Scoles, 2001: Determining genetic similarities and relationships among cowpea breeding lines and cultivars by microsatellite markers. *Crop Science* 41:189-197.
- Liu, K., Muse, S., 2005: Power Marker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *bioinformatics*. 2005; 21: 2128-9. In: Medline.
- Lonardi, S., M. Muñoz-Amatriaín, Q. Liang, S. Shu, S.I. Wanamaker, S. Lo, J. Tanskanen, A.H. Schulman, T. Zhu, M.C. Luo, 2019: The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *The Plant Journal* 98:767-782.
- Nei, M., 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Ogunkanmi, L. O., Ng. N. Ogundipe., C. Fatokun, 2008: Genetic diversity in wild relatives of cowpea (*Vigna unguiculata*) as revealed by simple sequence repeats (SSR) markers. *J. Food Agric. Environ* 6:263-268.
- Ouedraogo, J., M. Sawadago, J. Tignegre, I. Drabo, D. Balma, 2010 : Caractérisation agro-morphologique et moléculaire de cultivars locaux de niébé (*Vigna unguiculata*) du Burkina Faso. *Cameroon Journal of Experimental Biology* 6.
- Padulosi, S., 1993: Genetic diversity, taxonomy and ecogeographic survey of the wild relatives of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walpers).
- Pasquet, R., 1993 : Classification infraspécifique des formes spontanées de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.(Fabaceae) à partir de données morphologiques. *Bulletin du Jardin botanique national de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van Belgie*:127-173.
- Pasquet, R., 1999: Genetic relationships among subspecies of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. based on allozyme variation. *Theoretical and applied genetics* 98:1104-1119.
- Pasquet, R., 2013: Genus *Vigna* and cowpea (*V. unguiculata* [L.] Walp.) taxonomy: current status and prospects. Dakar, Senegal.
- Pasquet, R.S., Y. Feleke, P. Gepts, 2021: Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] maternal lineages, chloroplast captures, and wild cowpea evolution. *Genetic Resources and Crop Evolution* 68:2799-2812.
- Patwardhan, A., S. Ray, A. Roy, 2014: Molecular markers in phylogenetic studies-a review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*. 2: 131. doi:10.4172/2329-9002.1000131.
- Peakall, R.S.P.E., 2012: GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28:2537–2539.
- Pratap, A.G.S., N. Malviya, R. Tomar, R. Maurya, K.J. John, L. Madhavan, 2015: Genome scanning of Asiatic *Vigna* species for discerning population genetic structure based on microsatellite variation. *Mol. Breed.* 35:1–13.
- Pritchard, J.K.S.M., Donnelly, P., 2000: Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959.
- Ribeiro-Carvalho, C., H. Guedes-Pinto, G. Igrejas, P. Stephenson, T. Schwarzacher, J. Heslop-Harrison, 2004: High levels of genetic diversity throughout the range of the Portuguese wheat landrace 'Barbela'. *Annals of Botany* 94:699-705.
- Risterucci, A-M., L. Grivet, J.A. N'Goran, I. Pieretti, M-H. Flament, C. Lanaud, 2000: A high-density linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theoretical and applied genetics* 101:948-955.
- Salem, K.F., Sallam, A., 2016: Analysis of population structure and genetic diversity of Egyptian and exotic rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Comptes rendus biologiques* 339:1-9.
- Sarr, A., A. Bodian, K.M. Gbedevi, K.N. Ndir, O.O. Ajewole, B. Gueye, D. Foncéka, E.A. Diop, B.M. Diop, N. Cissé, 2021: Genetic diversity and population structure analyses of wild relatives and cultivated cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) from Senegal using simple sequence repeat markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 39:112-124.

Singh, B., M.P. Timko, F.J. Aragao, 2014: Advances in cowpea improvement and genomics. In. Legumes in the Omic Era: Springer. p. 131-153.

Sodedji, F.A.K., S. Agbahoungba, E.E. Agoyi, K.M. Kafoutchoni, H-Y. Kim, S-PA. Nguetta, A.E. Assogbadjo, 2020: DArT-seq based SNP analysis of diversity, population structure and linkage disequilibrium among 274 cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) accessions.

Thomson, M.J., N.R. Polato, J. Prasetyono, K.R. Trijatmiko, T.S. Silitonga, S.R. McCouch, 2009: Genetic diversity of isolated populations of Indonesian landraces of rice (*Oryza sativa* L.) collected in East Kalimantan on the island of Borneo. *Rice* 2:80-92.

Wang, M.L., N.A. Barkley, G.A. Gillaspie, G.A. Pederson, 2008: Phylogenetic relationships and genetic diversity of the USDA *Vigna* germplasm collection revealed by gene-derived markers and sequencing. *Genetics Research* 90:467-480.

Xiong, H., A. Shi, B. Mou, J. Qin, D. Motes, W. Lu, J. Ma, Y. Weng, W. Yang, D. Wu, 2016: Genetic diversity and population structure of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *PLoS One* 11 : e0160941. pp. 1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160941>

**Annexe. Synoptic table of Names of markers, Length (bp) and primer sequences**

Names of Markers	Length (bp)	Primer Sequences
[SSR-6328]	40	Left CACGACGTTGTAAAACGACGGTGTCAACGGTATGCTCATT
	20	Right GGGGTGGGGTAGAGAGAAAG
[SSR-6329]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACCATGGCTATCATGGGTCCTT
	23	Right GGAAGTTGAAATGAACCTGCTAA
[SSR-6223]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACCAGACCCAAGGAGCTTTTTTC
	20	Right TTCCAGATATCATCGAGCA
[SSR-6221]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACTTTGGATTCCCTCGTCATTCC
	20	Right CAGCTCTGGAAGCAACTGAA
[SSR-6225]	41	Left CACGACGTTGTAAAACGACCTCAAGCTTGGTTGAGATGAAA
	20	Right ATATCGGGCGCACTTTTGTAA
[SSR-6322]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACGAAGGCCCTTTAGGATCACC
	20	Right CATCGTTCAGCTGATGTTCCG
[SSR-6246]	42	Left CACGACGTTGTAAAACGACTCTTGGGTCTCCAAAATCTGTAA
	20	Right TTTCTATTGGGGTCCCTTC
[SSR-6209]	46	Left CACGACGTTGTAAAACGACAAACAAGATAACTCTAAGGCAGAACAA
	21	Right ACGGTGGAAGTTTAACTGGT
[SSR-6212]	41	Left CACGACGTTGTAAAACGACGCCTATGACACATAGACCATGC
	20	Right TTGGTGGTCAAGGATGAAGA
[SSR-6189]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACCTCAATGTCCAACCAGGTCA
	20	Right CAACTACCAAAGGGAAGGA
[SSR-6191]	43	Left CACGACGTTGTAAAACGACAAACTGCTAACCAGAAACAGAAAA
	20	Right TGTCATTTTTGTTGGCCTCA
[SSR-6170]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACACCTGCATTGCCTCATATCC
	20	Right GCTGATTCGGCTTGTCTTC
[SSR-6219]	42	Left CACGACGTTGTAAAACGACACAATGCACAAAATGTGAATCTC
	22	Right GGGAAGCTTAGGAAAAGTTTGA

Names of Markers	Lengh (bp)	Primer Sequences
[SSR-6303]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACACCTCCCAAGTCCCCTCTT
	20	Right GGAGAGAGATTGTGCGTGGT
[SSR-6860]	43	Left CACGACGTTGTAAAACGACCTAGAACGTTTCATCTTAATATTAC
	21	Right TAACTATTTAAAGATGATTC
[SSR-6924]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACGATCACCTCCCACACCTCAG
	20	Right TAGCAGTTTCCCACCAGCTT
[SSR-6193]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACACCAAAGCAACACCAACACA
	20	Right GATGTGGGAAGAAGCTGAGG
[SSR-6310]	41	Left CACGACGTTGTAAAACGACTCCGAATCATCTAGCACTTGAA
	21	Right AGGCTCATGATTTCCAGTTT
[SSR-6276]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACTCAACGTGGTTTGGAACGTA
	22	Right CGATTAGACTGGTCTTTGCTCA
[SSR-6274]	44	Left CACGACGTTGTAAAACGACTCAAATAGAAAGAAAAACAAGAAAT
	20	Right TTCTCAACGTGCTGCTTCTG
[SSR-6222]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACAGTACGCACGGCAACCTTAG
	20	Right GTGCAACCCTAACGCTCTTC
[SSR-6205]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACGGCAAGATTCAGCTTTGCAT
	20	Right AGTTCAACGATGGAGGATGG
[SSR-6674]	40	Left CACGACGTTGTAAAACGACCAAAGCGTCTGAGTGTCAAAC
	20	Right GCTTTCCGGCTGATTAATCC
[SSR-6920]	41	Left CACGACGTTGTAAAACGACTGCTTTGGCAATAAAAAGTAAA
	20	Right ATACCGAACCGACAATGAGC
[SSR-6229]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACTATTCCGACAACCACCCAAT
	20	Right GGGATCCATGAGGAGAGAGA
[SSR-6619]	38	Left CACGACGTTGTAAAACGACGCAAAGTAGGTCCAAAAGC
	19	Right GAAAGAGTGTGCAAGCAG
[SSR-6172]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACGGAAGACACGCGTTATGGTT
	23	Right TTTTCCACTAAAAGTTTGTCA



Names of Markers	Lengh (bp)	Primer Sequences
[SSR-6188]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACACCAGGTGCAATGCTTCTCT
	20	Right CCACACCCTGTTCCGTA CT C
[SSR-6190]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACCGAGTTGCGATATCTCCCTG
	20	Right CGAAGACGACAACACAGTGG
[SSR-6204]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACCGATCACGGTTTACGACTGA
	20	Right GGGAGTGAAGAAGCAATGGA
[SSR-6217]	37	Left CACGACGTTGTAAAACGACGGGAGTGCTCCGGAAAGT
	24	Right TTCCCTATGAACTGGGAGATCTAT
[SSR-6220]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACACCAGGTGCAATGCTTCTCT
	21	Right CCTTCCTGTCATCATTCCAA
[SSR-6238]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACGGACCATTATGCGTCGAAAT
	20	Right AAAGGCAGCATTCTCAGCAG
[SSR-6243]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACGTAGGGAGTTGGCCACGATA
	22	Right CAACCGATGTAAAAAGTGGACA
[SSR-6245]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACCGAACATGTTTTTGGTCACG
	20	Right CTACAACCGCGTTAGCCTTC
[SSR-6281]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACGCATCAATTTGAGCGAGGAT
	20	Right GAGTGACATTTCCGCGTCTT
[SSR-6301]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACACCTCCCAAGTCCCACTCTT
	18	Right CGGACTGGACGGAGAGAC
[SSR-6309]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGGGACGAGAAAATGTTTG
	20	Right AACCGTTGGAGAAGGGAAAG
[SSR-6315]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACCGCAGTGAAAAGGAAAAGGA
	20	Right ATCAGCGTCCAATCCAAAAA
[SSR-6325]	19	Left CACGACGTTGTAAAACGACGGTGCAACACCGTTGGAG
	22	Right TGCAAGCCATTAGAGAATGACA
[SSR-6326]	21	Left CACGACGTTGTAAAACGACGAATTGGATGACAGGATTCCA
	21	Right CTGCCATTCTCAGGTTTCAGTC

Names of Markers	Lengh (bp)	Primer Sequences
[SSR-6330]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACCTCCTCCACCTCCTCT
	20	Right GTTATGGTCGGGATCGAAGA
[SSR-6672]	21	Left CACGACGTTGTAAAACGACCACTCCATCAAATACTGTCTC
	20	Right GAATACCCTTTGTCTCTCTG
[SSR-6683]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACGCAGTGAGCACATCGTTGAC
	21	Right CAGGAAAAGTTGGCTCTCAGG
[SSR-6752]	20	Left CACGACGTTGTAAAACGACGTCATATGTTGTCGATCTTC
	22	Right CTGCTACACAAATTATCCTCTC
[SSR-6787]	30	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAAGTGCTGTTGCTTCTGCTGCTG
	36	Right CATTAAGTCCCATTAGGTGGCGGGCATTCCGATTC
[SSR-6789]	53	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAAGCACCAACAACACCCTTTC
	36	Right CATTAAGTCCCATTAGTTGGAATGGAAAGAGTGG
[SSR-6790]	53	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAACCTTACCTTACCTATAGAC
	37	Right CATTAAGTCCCATTACACTGGGGTGCCTAAGGAAG
[SSR-6791]	53	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAACGGAAGCAATCACAGCACAC
	36	Right CATTAAGTCCCATTACTGTCTTTCTTTCCCTCAC
[SSR-6857]	42	Left CACGACGTTGTAAAACGACCAGACTCCAAATTATTAACACTC
	20	Right GTAGATGTTCTCTTCAGTTC
[SSR-6787]	30	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAAGTGCTGTTGCTTCTGCTGCTG
	36	Right CATTAAGTCCCATTAGGTGGCGGGCATTCCGATTC
[SSR-6789]	53	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAAGCACCAACAACACCCTTTC
	36	Right CATTAAGTCCCATTAGTTGGAATGGAAAGAGTGG
[SSR-6790]	53	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAACCTTACCTTACCTATAGAC
	37	Right CATTAAGTCCCATTACACTGGGGTGCCTAAGGAAG
[SSR-6791]	53	Left CACGACGTTGTAAAACGACACGACGTTGTAAAACGGAAGCAATCACAGCACAC
	36	Right CATTAAGTCCCATTACTGTCTTTCTTTCCCTCAC
[SSR-6857]	42	Left CACGACGTTGTAAAACGACCAGACTCCAAATTATTAACACTC
	20	Right GTAGATGTTCTCTTCAGTTC

Names of Markers	Lengh (bp)	Primer Sequences
[SSR-6921]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACTCCTCCTGATTGGACCTCAC
	23	Right TCCTCATCACAATGTTTCATCATC
[SSR-6922]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACGAAGGCCACACAAGAGACCA
	25	Right TTTGATGTTTTTCATGTTCTTCTGTT
[SSR-6950]	40	Left CACGACGTTGTAAAACGACTGACCTTTGAAGATCGAGACA
	21	Right CTATGATCCTACCGCTGAGTA
[SSR-6964]	40	Left CACGACGTTGTAAAACGACGAAGAGCGGTAAAACCAACAA
	21	Right ATGTCAAGAGCCTGCAAGGAC
[SSR-6973]	41	Left CACGACGTTGTAAAACGACGTTGAGACCAAACATTGTTCGC
	22	Right GCGTAAGCAAGTTAATCTCTAG
[SSR-7025]	41	Left CACGACGTTGTAAAACGACGTTTCTCTAGAGGTGCATCAAT
	22	Right GTACCTGCAACCACAAGTAATG
[SSR-7028]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACTGGATGGGCCTTTTAATGTG
	20	Right GGGCCTCCTTGAGAAGCATA
[SSR-7041]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACAGACGATGCATAGCCGTAGC
	20	Right CGTTTTCCATTGCTCATTCC
[SSR-7043]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACCACCTCTCCTGCACTCAA
	20	Right GGTTGGGCAAAGAGGAACTC
[SSR-7051]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACCGGTCCTGATGAGTGTGT
	20	Right TGAGCTTGTCGAGACCACAG
[SSR-7067]	39	Left CACGACGTTGTAAAACGACATTCGCCCTTTTCTCACTT
	20	Right GCAGAGGTGGTAGCAGAAGG