

Reproduction
et
Diversité Génétique
chez
Parkia biglobosa (Jacq.) G.Don

Sibidou Sina

Promotor: Prof. Dr. Ir. L.J.G. van der Maesen
Hoogleraar Plantentaxonomie
Wageningen Universiteit

Co-promotoren: Dr. H. Joly
CIRAD-Forêt, Montpellier
Dr. M. Sacandé
Royal Botanic Gardens Kew at Wakehurst

Overige leden: Prof. Dr. E. Smets
Universiteit Leiden
Prof. Dr. R.F. Hoekstra
Wageningen Universiteit
Prof. Dr. Ir. E. Jacobsen
Wageningen Universiteit
Dr. L. Visser
Centrum voor Genetische Bronnen, WUR
Dr. Ir. G.H. Schmelzer
Plant Resources of Tropical Africa, WUR

Reproduction
et
Diversité Génétique
chez
***Parkia biglobosa* (Jacq.) G.Don**

Sibidou Sina

Proefschrift
ter verkrijging van de graad van doctor
op gezag van de rector magnificus
van Wageningen Universiteit
Prof. Dr. M.J. Kropff
in het openbaar te verdedigen
op woensdag 8 maart 2006
des namiddags te 13.30 uur in de Aula

Sina, S. (2006)

PhD thesis Wageningen University, Wageningen, the Netherlands.

ISBN 90-8504-361-1

Key words: West Africa, Burkina Faso, reproduction of *Parkia biglobosa*, gene flow, genetic diversity, semi-arid vegetation, parklands.

This study was carried out at:

NHN-Wageningen, Biosystematics Group, Wageningen University, the Netherlands,

Generaal Foulkesweg 37, 6700 ED Wageningen

(then Department of Plant Taxonomy);

Department of Plant Sciences, Wageningen University, the Netherlands;

CNSF, Centre National des Semences Forestières, Ouagadougou, Burkina Faso.

The study has been carried out within the framework of the Research School Biodiversity.

A Alima, Madina et Naïma

Sommaire

Résumé général	IX
Samenvatting	XII
Summary	XV
Chapitre 1: Introduction générale	1
1.1. La conservation des ressources phylogénétiques: une préoccupation internationale	3
1.2. Ressources phylogénétiques en Afrique de l'Ouest: cas des espèces des parcs arborés	4
1.3. <i>Parkia biglobosa</i> (Jacq.) G.Don	6
1.3.1. Botanique	6
1.3.2. Biogéographie	7
1.3.3. Biologie	8
1.3.4. Importance socio-économique	8
1.4. Contexte et objectifs de l'étude	9
Chapitre 2: Biologie de la reproduction de <i>Parkia biglobosa</i>	11
Résumé ; Abstract	11
2.1. Introduction	13
2.2. Matériel et méthode	14
2.2.1. Sites d'études	14
2.2.2. Méthode	15
2.2.2.1. Suivi phénologique	15
2.2.2.2. Système de reproduction	19
2.3. Résultats	21
2.3.1. Phénologie de la floraison et de la fructification	21
2.3.2. Analyse du système de reproduction	23
2.4. Discussion	25
Chapitre 3: Diversité génétique de <i>Parkia biglobosa</i>	31
Résumé ; Abstract	31
3.1. Introduction	33
3.2. Matériel et méthode	35
3.2.1. Matériel végétal	35
3.2.2. Méthode	36
3.2.2.1. Échantillonnage des populations et des arbres analysés	36
3.2.2.2. Electrophorèse enzymatique	36
3.2.2.3. Paramètres de génétique des populations	37
3.3. Résultats	40
3.3.1. Déterminisme génétique	40
3.3.2. Organisation de la diversité génétique	40
3.3.2.1. Diversité intra-population	40
3.3.2.2. Diversité inter-population	45
3.4. Discussion	46
Chapitre 4: Conservation a long terme et germination optimale de graines de <i>Parkia biglobosa</i>	53
Résumé ; Abstract	53
4.1. Introduction	55
4.2. Matériel végétal et méthode	56
4.2.1. Matériel végétal	56
4.2.2. Méthode	57

4.3. Résultats	58
4.3.1. Prétraitement des lots de semences conservées	58
4.3.2. Germination des graines des populations sélectionnées	59
4.3.3. Isothermes d'absorption d'eau des semences	60
4.4. Discussion	62
Chapitre 5: Conclusion générale	65
5.1. Conservation des ressources génétiques de <i>Parkia biglobosa</i>	67
5.1.1. Echantillonnage en vue de la récolte de graines destinées à la conservation ex-situ ...	68
5.1.1.1. Paramètres génétiques	69
5.1.1.2. Paramètres physiologiques des semences	72
5.1.1.3. Paramètres éco-géographiques	72
5.1.1.4. Paramètres anthropiques	73
5.1.2. Proposition d'une stratégie de conservation de <i>Parkia biglobosa</i>	73
5.2. Implications pour le système de récolte et les pratiques de conservation au CNSF	74
5.3. Schéma global des stratégies de conservation des espèces soudano-sahéliennes et soudaniennes	79
5.4. Conclusions	81
Bibliographie	83
Remerciements	93
Curriculum vitae	95
Publications	95
Liste des sigles et acronymes	96
Liste des figures et tableaux	97
Annexes	98

Résumé général

Reproduction et Diversité Génétique chez *Parkia biglobosa* (Jacq.) G.Don

Parkia biglobosa (Jacq.) G.Don est l'une des 34 espèces connues du genre *Parkia* dont le centre d'origine est l'Amérique du Sud. De nos jours, on la trouve dans les parcs agroforestiers des savanes soudanaises africaines, répartie depuis le Sénégal à l'Est jusqu'en Ouganda à l'Ouest. Elle occupe une place capitale dans le développement socio-économique des communautés locales en raison des multiples biens et services que procurent ses produits (alimentation, médecine et pharmacopée traditionnelle, protection et amélioration des sols, rites et coutumes, etc.). Cette importance est traduite par la diversité des travaux de recherche entrepris à l'échelle de la sous-région ouest africaine. Cependant, des pressions d'origines multiples dont notamment la croissance démographique, la sécheresse récurrente, des pratiques culturelles inadaptées, entraînent la destruction d'arbres ou freinent la régénération, faisant peser de lourdes menaces sur le développement des parcs à néré dans plusieurs zones. C'est dans ce contexte que la présente étude sur la biologie de la reproduction et la diversité génétique de *P. biglobosa* a été entreprise en vue de déterminer les paramètres du système de reproduction de l'espèce et l'organisation de sa structure génétique dont la connaissance est capitale pour l'élaboration de toute stratégie d'exploitation et de conservation durables, rentables et bien ciblés.

L'analyse des paramètres du système de reproduction évalués pour deux peuplements de 153 et 209 arbres répandus dans des champs de culture respectivement à Bissighin et Nagaré au Burkina Faso, a mis en relief des indices de synchronisme estimés à 0,78 pour Nagaré et 0,79 pour Bissighin. Ceci indique que bien qu'étalée sur près de 5 mois, la floraison se déroule de façon synchronisée pour la plupart des individus de ces 2 populations. Les observations phénologiques ont établi que *P. biglobosa* a un profil de type saisonnier et se déroule principalement en saison sèche comme la plupart des espèces de la savane soudanienne. L'examen des taux d'allofécondation de *P. biglobosa* aussi bien au niveau population qu'au niveau famille ($t_m = 0,941$ et $0,981$), dont la majorité des valeurs sont proches de 1, laisse supposer que l'espèce présente un système d'auto-incompatibilité partielle, caractéristique répandue chez la plupart des espèces hermaphrodites. Aussi, des facteurs d'origine génétique (protandrie, système d'auto-incompatibilité) et un facteur environnemental (niveau élevé de synchronisme floral), peuvent expliquer les valeurs élevées du taux d'allofécondation. Nous avons mis en évidence par ailleurs qu'il y avait un faible apparentement entre les arbres récoltés dans les deux populations (les valeurs t_m-t_s sont faibles, entre 0 et 0,086) chez cette espèce. Les corrélations de paternité (entre 0,299 pour Bissighin et 0,502 pour Nagaré) traduisent la participation d'un nombre peu important de donneurs de pollen pour chaque arbre (2 à 3), dû sans doute à la forte implication des abeilles comme principaux pollinisateurs dans lesdites populations.

L'étude sur la diversité génétique de *P. biglobosa* au moyen de l'électrophorèse enzymatique a permis de déterminer la diversité intra- et inter-population, la structure et les distances génétiques entre les différentes populations. L'analyse de graines issues de fécondation libre, récoltées sur 1658 arbres provenant de 64 populations naturelles réparties à travers 11 pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre, a élucidé le déterminisme génétique de cinq systèmes enzymatiques codés par 8 locus polymorphes comportant 33 allèles. Nous avons trouvé des valeurs relativement élevées pour les paramètres de diversité intra-population avec un nombre moyen d'allèles (A) de 4,13, un pourcentage de polymorphisme (P) de 100 % et un taux d'hétérozygotie attendue (H_e) de 0,34. L'importance du flux de gène ($N_m = 1,61$) et la faible différenciation génétique moyenne entre les populations ($F_{st} = 0,13$) indiquent qu'un niveau d'échange de gènes assez significatif se fait entre les populations et qu'une part relativement importante de la diversité génétique de l'espèce est d'origine intra-population. La matrice des distances génétiques montre des valeurs peu élevées,

comprises entre 0 et 0,240 ce qui indique que les populations présentent une ressemblance génétique et laisse supposer qu'elles appartiennent à un même groupe génétique. Ce niveau de diversité et cette structuration génétique pourraient être essentiellement le fait de l'histoire évolutive de l'espèce, sans goulot d'étranglement, de la biologie de la reproduction (indice de synchronisme et taux d'allofécondation élevé) et de l'action de l'Homme qui a développé au cours du temps les parcs à néré et ainsi favorisé les flux de gène entre eux.

Afin de permettre une bonne conservation des ressources génétiques dans des banques de semences, nous avons évalué l'état des lots de *P. biglobosa* en conservation au CNSF. L'identification des optima de germination des graines de jeune lots et de lots conservés depuis au moins 20 ans, ainsi que des graines de 23 populations que nous avons sélectionnées sur la base des études de la reproduction et de génétique a été faite. L'étude a consisté à déterminer les causes de la faible longévité des lots de ces semences conservées au CNSF, et à identifier des méthodes appropriées de conservation pour une optimisation de la longévité des semences. Nos essais de prétraitements (scarification à l'acide sulfurique concentré) des lots ont permis de conclure que la durée de conservation n'a aucun effet sur le prétraitement optimum initialement identifié et préconisé pour cette espèce. Le même prétraitement est valable et peut être utilisé pour les graines aussi bien de moins d'un <1 an que de plus de >20 ans de conservation.

Cette étude physiologique a révélé que la variation des teneurs en eau (TE) des semences conservées à 4°C au CNSF s'explique par l'ouverture répétée (mauvaise manutention) des sachets plastiques lors des prélèvements effectués dans la chambre froide à plus de > 75% HR, sans précautions spéciales. A cause de la porosité partielle des téguments de *P. biglobosa*, le rééquilibrage des graines dans cette humidité relative entraîne subséquemment une élévation de la TE. Ces graines subissent alors une réduction de leur viabilité, quoiqu'elles puissent avoir une longévité importante (95% de germination a plus de 11 ans de conservation) si elles sont séchées et convenablement conservées dans des conteneurs hermétiques. L'isotherme d'absorption d'eau construite pour l'espèce, a révélé que le niveau de TE $\leq 5\%$ recommandée correspond à une HR autour de 10% chez *P. biglobosa*. Nous proposons alors des méthodes de suivi des TE des graines et leur manipulation appropriée pendant la conservation.

L'analyse des paramètres de reproduction et de génétique, associés aux facteurs éco-géographiques et anthropiques nous a permis de proposer un échantillon représentatif de 11 populations « idéales » à l'échelle Africaine, dans la perspective d'une conservation *ex situ* à long terme de graines. A cette stratégie, nous avons recommandé l'association de la conservation *in situ* dans les parcs, dont le succès dépendra des efforts conjugués des communautés locales, des techniciens et du politique. Soucieux de concilier les impératifs de gain génétique et les contraintes budgétaires, et considérant les paramètres génétiques de l'espèce au Burkina Faso, sa distribution géographique et la division phytogéographique du pays, nous avons déterminé un échantillon de 10 populations pour les besoins nationaux de reboisement et de conservation à long terme dans la banque de semences du CNSF et selon les règles de l'art. Par ailleurs, 15 individus par population, échantillonnés de manière systématique, ont été estimés convenables pour piéger le maximum de variation génétique. L'urgence de la mise en œuvre d'actions coordonnées pour la conservation et l'utilisation durable des ressources génétiques des espèces soudanaises et soudano-sahéliennes nous a conduit à proposer un guide général d'échantillonnage de ces espèces, en vue de la récolte de graines destinées à la conservation et au reboisement. Compte tenu de la nature des questions posées qui dépassent largement les limites d'une seule discipline scientifique d'une part, et de la distribution géographique transfrontalière des espèces d'autre part, nous avons préconisé la constitution d'équipes pluridisciplinaires de recherche au niveau des différents pays et le renforcement de la coopération scientifique régionale en vue de générer et/ou d'échanger les informations et les expériences nécessaires à la formulation de stratégies efficaces de conservation des ressources génétiques.

Cette thèse offre de nouvelles perspectives dans les approches de conservation des ressources de *P. biglobosa*. Elle informe sur les caractéristiques des populations, capitales pour la capture du

maximum de diversité génétique de l'espèce. La conservation et l'utilisation durables des ressources génétiques des populations « idéales » recommandées, aussi bien au niveau du Burkina Faso, que de la sous-région de l'Afrique de l'ouest, fait appel à une collaboration renforcée entre les différents intervenants. L'application des bonnes pratiques au laboratoire de semences offre plus de chance de maintenir la viabilité et de prolonger la longévité des graines et ainsi de les conserver pour le long terme. En somme, nous espérons que ces résultats amélioreront et guideront les programmes de conservation non seulement de cette espèce, mais également inspireront d'autres travaux sur les espèces importantes soudano-sahéliennes pour leur conservation efficace. La conservation et l'utilisation durables des ressources phytogénétiques au profit des générations actuelles et futures seront alors assurées.

Samenvatting

Voortplanting en Genetische Diversiteit bij *Parkia biglobosa* (Jacq.) G.Don

Parkia biglobosa (Jacq.) G.Don is een van 34 soorten die bekend zijn in het genus *Parkia*, waarvan de oorsprong ligt in Zuid Amerika. Tegenwoordig vindt men de soort in de “agroforestry” parklandschappen van de savannen in de Sudan-zone van Afrika, van Senegal in het westen tot Uganda in het oosten. *Parkia biglobosa* heeft een belangrijke plaats in de sociaal-economische ontwikkeling van de lokale gemeenschappen, vanwege het grote nut van de producten van deze boom (voeding, medicijnen en traditionele geneeskunde, bescherming en verbetering van de bodem, religieuze diensten en gebruiken etc.). Dit belang wordt onderschreven door de veelvormigheid van het onderzoek dat ernaar wordt ondernomen in de regio. Echter, bedreigingen van diverse aard waaronder in het bijzonder de bevolkingsgroei, terugkerende droogte, en niet-aangepaste teeltmaatregelen, veroorzaken de vernietiging van bomen of remmen de regeneratie, en vormen een zware bedreiging voor de ontwikkeling van het *Parkia*-parklandschap in diverse zones. In dit verband is deze studie naar de voortplanting en de genetische diversiteit van *Parkia biglobosa* ondernomen om de parameters van het voortplantingssysteem en de samenstelling van de genetische structuur van de populaties vast te stellen. Deze kennis is belangrijk is voor iedere beheers- en behoudstrategie, welke winstgevend en aangepast beoogt te zijn.

De analyse van het voortplantingssysteem, bestudeerd in twee populaties van 153 en 209 bomen in akkers respectievelijk in Bissighin en in Nagaré in Burkina Faso, leverden synchroniteits-indices op van 0,78 voor Nagaré en 0,79 voor Bissighin. Dit betekent dat hoewel verspreid over bijna 5 maanden, de bloei zich ontwikkelt op een synchrone manier voor de meeste individuen van deze twee populaties. De bloeiwaarnemingen lieten zien dat *P. biglobosa* een seizoensbloeier is, waarvan de bloeitijd voornamelijk plaatsvindt in het droge seizoen, zoals de meeste soorten in de Sudan-zone. De studie naar de mate van kruisbestuiving op populatieniveau zowel als op familieniveau ($t_m = 0,941$ en $0,981$), waarvan de waarden dichtbij 1 liggen, doet veronderstellen dat de soort een systeem van gedeeltelijke zelfincompatibiliteit bezit, een eigenschap van de meerderheid van tweeslachtige plantensoorten. Daarnaast kunnen factoren van genetische herkomst (protandrie, zelfincompatibiliteit) en een omgevingsfactor (hoog niveau van bloeisynchroniteit), de hoge mate van kruisbestuiving verklaren. In deze studie is bewezen dat er een zwakke verwantschap bestaat tussen de bestudeerde bomen in de twee populaties (de t_m - t_s waarden zijn laag, tussen 0 en 0,086 bij deze soort. De correlatie met het vaderschap (tussen 0,299 voor Bissighin en 0,502 voor Nagaré) vertaalt zich in de tamelijk geringe deelname van de pollenleveranciers voor iedere boom (2 à 3), hetgeen zonder twijfel ligt aan het gedrag van de bijen welke de voornaamste bestuivers zijn in de genoemde populaties.

De studie van de genetische diversiteit van *P. biglobosa* door middel van enzym-electroforese heeft ons in staat gesteld de diversiteit binnen en tussen populaties, de structuur en de genetische afstand tussen de verschillende populaties vast te stellen. De analyse van zaden verkregen uit open bestuiving, geoogst van 1658 bomen uit 64 populaties, verspreid over 11 landen in West- en Centraal Afrika, heeft de erfelijke structuur van vijf enzymsystemen verhelderd, welke gecodeerd zijn door 8 polymorfe loci, met 33 allelen. Wij hebben tamelijk hoge waarden gevonden voor de parameters van diversiteit binnen de populatie, met een gemiddeld aantal allelen (A) van 4,13; een percentage polymorfisme (P) van 100% en een verwacht niveau van heterozygotie (H_c) van 0,34. Het hoge niveau van gene flow ($N_m = 1,61$) en de zwakke gemiddelde verschillen tussen de populaties ($F_{st} = 0,13$) geven aan dat er een significante mate van genenuitwisseling plaatsvindt tussen de populaties en dat een relatief belangrijk deel van de genetische diversiteit van intra-populatie herkomst is. De matrix van de genetische afstand laat tamelijk lage waarden zien, tussen 0 en 0,240, hetgeen betekent dat de populaties genetisch op elkaar lijken en doen veronderstellen dat

zij tot eenzelfde genetische groep behoren. Dit niveau van diversiteit en deze structurering stammen in essentie van de evolutiegeschiedenis van deze soort, zonder “flessenhals”, van de voortplantingsbiologie (hoge synchroniteitsindex en mate van kruisbestuiving) en de handelingen van de mens die de *Parkia* “boomgaarden” heeft ontwikkeld in de loop van de tijd, en zo de gene flow tussen populaties heeft bevoordeeld.

Om een goed behoud van de genenbronnen na te streven, hebben wij de status van zaadmonsters opgeslagen bij het CNSF beoordeeld. Wij onderzochten de optimumomstandigheden voor verse zaden zowel als zaden bewaard gedurende tenminste 20 jaar, en bovendien de zaden van 23 populaties welke wij hebben uitgekozen via voortplanting- en genetische studies. De studie bestond uit het bepalen van de redenen waarom zaadmonsters die bij het CNSF bewaard werden geen lange levensduur hadden, en om methodes vast te stellen om die levensduur te optimaliseren. Onze toetsen van voorbehandeling (scarificatie met geconcentreerd zwavelzuur) lieten zien dat de duur van het bewaren van de zaden geen effect heeft op de optimum voorbehandeling voor deze soort, zoals die eerder was vastgesteld. Eenzelfde methode van voorbehandeling geldt zowel voor zaden welke jonger zijn dan een jaar, als voor die welke langer dan 20 jaar zijn opgeslagen.

Deze fysiologische studie liet zien waarom vochtpercentages in de zaden bij 4°C bij het CNSF opgeslagen zo variëren; dit komt door het herhaalde openen van de plastic zakken (slecht beheer) om zaden uit te nemen in de koude zaadkamer bij meer dan 75% RH, zonder verdere voorzorg. Omdat de zaadhuid van *P. biglobosa* gedeeltelijk poreus is, stijgt in deze verhoogde luchtvochtigheid het vochtgehalte van het zaad. De kiemkracht van de zaden gaat daardoor omlaag, terwijl ze een lange levensduur kunnen hebben (95% kieming na meer dan 11 jaar bewaring) als ze gedroogd zijn en op goede wijze in hermetisch gesloten vaten worden opgeslagen. De isotherm van wateropname die voor *P. biglobosa* is vastgesteld toont dat het vochtgehalte $\leq 5\%$ overeenkomt met een RH van ongeveer 10%. Wij raden daarom methoden aan om regelmatig het vochtgehalte van de zaden te verifiëren en deze op de juiste manieren te behandelen.

De analyse van de parameters van voortplanting en erfelijkheid, gekoppeld aan eco-geografische en menselijke factoren stelde ons in staat een representatieve bemonstering van 11 “ideale” of “optimale” populaties op Afrikaanse schaal voor te stellen, met de opzet de zaden voor lange tijd *ex situ* te conserveren. In combinatie met deze strategie bevelen wij aan te soort *in situ* te conserveren in het parkland, waarvan het succes afhangt van gezamenlijke inspanning van de lokale dorpsgemeenschappen, de technici en de politiek. Gezien de budgettaire beperkingen, de genetische eigenschappen van de soort in Burkina Faso, en de geografische verspreiding en de fyto-geografische indeling van het land, stellen wij vast dat er 10 populaties nodig zijn voor de nationale behoefte aan herbeplanting en lange-termijn zadenopslag in de CNSF genenbank, volgens de regelen der kunst. Verder schatten wij in dat 15 individuen per populatie, bemonsterd op systematische manier, geschikt zijn om een maximum aan genetische variatie te vangen. Het is uitermate belangrijk om gecoördineerde maatregelen te nemen om de duurzame benutting van genenbronnen van de soorten uit de Sudan en Sudan-Sahel zones te bewerkstelligen en wij hebben daartoe een algemene richtlijn opgesteld om deze soorten te bemonsteren, en om de zaden te oogsten die bestemd zijn voor herbebossing en conservering. Rekening houdend met de aard van de vragen die opdoemen en welke aan de ene kant de beperkingen van één wetenschappelijke discipline te boven gaan, en van de geografische verspreiding van de soorten aan de andere kant, hebben wij multidisciplinaire onderzoeksteams voorgesteld voor de diverse landen om de regionale samenwerking te versterken, en gegevens en ervaringen te verzamelen en uit te wisselen, die nodig zijn voor het opstellen van efficiënte strategieën voor het conserveren van genetische bronnen.

Dit proefschrift beschrijft nieuwe mogelijkheden in de aanpak van het conserveren van genetische bronnen van *P. biglobosa*. Het geeft de eigenschappen weer van de populaties, die van groot belang zijn voor het verkrijgen van de grootst mogelijke genetische variatie van de soort. Het behoud en de duurzame benutting van de genenbronnen van “optimale” populaties wordt aanbevolen voor zowel Burkina Faso als voor West-Afrika en doet een beroep op een versterking van de samenwerking tussen de verschillende belanghebbenden. Het toepassen van goede praktijken in

het zaadlaboratorium biedt betere vooruitzichten om de kiemkracht en de levensduur van de zaden te verbeteren om zo de lange-termijn bewaring te verbeteren. Wij hopen ten slotte dat deze resultaten de conserveringsprogramma's van niet alleen *Parkia biglobosa*, maar ook die van andere belangrijke soorten uit de Sahelzone zullen verbeteren, om een efficiënte conservering te bewerkstelligen. Zo zullen behoud en duurzaam gebruik van genetische bronnen verzekerd zijn voor de huidige en toekomstige generaties.

Summary

Reproduction and Genetical Diversity of *Parkia biglobosa* (Jacq.) G.Don

Parkia biglobosa (Jacq.) G.Don, African locust bean, is one of the 34 known species of the genus *Parkia* whose centre of origin is South America. It is an agroforestry tree species spread throughout the African sudanian savannas, from Senegal in the West to Uganda in the East. *P. biglobosa* is also an important socio-economic species in high demand by local communities for its multiple amenities and uses (food, traditional medicine and pharmacy, preservation and improvement of soil fertility, rites and customs, etc.). Such an importance engenders several diverse research programmes on this species that have been undertaken in West Africa. However, the species remains under pressure as a result of its over-exploitation by human population, shortage of rainfall and inappropriate agricultural practices, leading to the degradation and/or lack of regeneration of *P. biglobosa* parklands in many zones. In this context, the present study was undertaken in order to understand the reproductive biology and the genetic diversity of *P. biglobosa*, which are essential for the elaboration of an efficient strategy for sustainable use and conservation of genetic resources.

We investigated the mating system of the species in the semi-arid zones of Burkina Faso. Two populations were selected in Bissighin and Nagaré, with 153 and 209 trees, respectively, and were weekly monitored during two seasonal cycles of fruit formation. The floral phenological survey revealed relatively high synchronism index values of 0.78 for Nagaré and 0.79 for Bissighin. This was an indication that although the fruiting period lasts over about 5 months, the majority of the trees flowered synchronously in these two populations. The phenological observations have highlighted a seasonal profile of *P. biglobosa*, which mainly occurs in the dry season, like most of the sudanian savannah species. The high values of multilocus outcrossing for both, family level and within populations ($t_m = 0.941$ and 0.981), suggest that the species presents partial self-incompatibility, which is also a common feature in many hermaphrodite species. Genetic (protandry, self-incompatibility) and environmental (elevated level of floral synchronism) factors could explain such high values of multi-locus outcrossing. We demonstrated that there was a weak parental relationship between the trees that were analyzed (low t_m - t_s values, between 0 and 0.086). The paternity correlation ($r_p = 0.299$ for Bissighin and 0.502 for Nagaré) showed that each tree was pollinated by only two or three pollen donors, probably involving bees as the main pollinators.

The study of *P. biglobosa* genetic diversity using enzymatic electrophoresis allowed us to determine intra- and inter-population variations, the structure and genetic distances between populations. Open pollinated seeds collected from 1658 trees of 64 populations in 11 western and central African countries were analyzed and the genetic control of five enzymatic systems coding for 8 polymorphous locus with 33 alleles was thus elucidated. We obtained high values of intra-population genetic diversity, with mean number of alleles per locus ($A = 4.13$), with the percentage of polymorphism ($P = 100\%$), and with the expected heterozygosity ($H_e = 0.34$). The great value of gene flow ($Nm = 1.61$) and the low genetic differentiation between populations ($F_{st} = 0.13$) indicate that there was an important rate of gene exchange between the populations and that the genetic diversity of the species was also great within populations. The genetic distances were also low (between 0 and 0.240), indicating that the populations were similar enough to belong to the same genetic group. The actual genetic diversity and genetic structure of *P. biglobosa* might have resulted from its evolutionary history without a bottleneck sequence, from the reproductive biology with high flowering synchronism and outcrossing rates, and from the fact that farmers had had developed *P. biglobosa* parkland systems through years, hence facilitating gene flows between populations.

The storage conditions of *P. biglobosa* seeds in CNSF seed bank were assessed in order to ensure better conservation of these genetic resources. Methods for optimum germination were

identified for stored seeds, using both the commercial lots aged between 0 and 20 years that were collected in Burkina Faso, and the seeds of 23 populations (c. 11 years old) from West and Central Africa that were selected because of their high levels of genetic diversity. The germination results of these seeds, chemically scarified with sulphuric acid, showed no significant effects of the storage periods. The same optimum pre-treatment and duration, initially identified and recommended by CNSF for this species can be applied independent of the age of seeds between 0 and 20 years.

This physiological study revealed variations of seed moisture content (MC) during their storage at 4°C in the CNSF seed bank, partly explained by inappropriate handling of seeds (without any special precautions), i.e. the regular openings of plastic bags during sub-samples withdrawing of seeds within the cold room at > 75% RH. Because of the partial porosity of *P. biglobosa* seed integuments, the remaining seeds in the bags therefore re-equilibrate within this high RH condition and so increase their actual MC. Subsequently, the seed viability decreases due to elevated metabolic activity, despite the fact that they can maintain great longevity (95% germination after 11 years storage at 4°C) when they are properly dried and conserved in hermetic containers. The constructed water sorption isotherm for this species showed that the recommended level of ≤ 5% MC corresponds to about 10% RH for *P. biglobosa*. We suggested monitoring and handling procedures for conserving seeds in order to improve their longevity during storage.

Analyses of reproductive and genetic parameters, in association with eco-geographical and anthropological factors, allowed us to sample 11 representative «ideal» populations in West Africa for *ex-situ* long term conservation of seeds of the species. We have also recommended the association of *in-situ* conservation of these populations in the parklands, which success will depend on the common efforts of local communities, conservationists, technicians and politicians. Considering the genetic parameters of the species in Burkina Faso, its geographic distribution, the phyto-geographic division of the country, and according to the ‘law of diminishing returns’, we have selected 10 populations in Burkina Faso that can be used to collect seeds for the purposes of national planting programmes and for their long term conservation in CNSF seed bank, in agreement with the state of the art. In addition, for each population 15 individuals are suitable to capture maximum genetic variation and can be systematically sampled. The urgent need to take coordinated actions for sustainable use and conservation of threatened and important genetic resources of the sudanian and sudano-sahelian species, led us to propose sampling guidelines for better seed collections. Because many scientific disciplines are involved in the conservation of genetic resources and species are distributed across national boundaries, we suggest multi-disciplinary teams at national levels and scientific cooperation at regional level in order to generate and share information and experiences that are necessary for elaborating efficient strategies for sustainable management of genetic resources.

This thesis offers new perspectives and approaches for the conservation of *P. biglobosa* resources. It informs on the population characteristics that are important for capturing the maximum genetic diversity of the species. The sustainable use and conservation of genetic resources of the recommended «ideal» populations in Burkina Faso as well as in the West African region compel a strengthened collaboration between all stakeholders. The application of best practices in seed laboratory provides more chances to maintain viability and prolong longevity of seeds, and so guaranty the long term *ex-situ* conservation of the species. We hope that all these results will improve and guide conservation programmes, not only for *Parkia biglobosa*, but also will inspire works on important sudano-sahelian species for their efficient conservation. The sustainability of conservation and uses of plant genetic resources for the actual and future generations will then be guaranteed.

Sibidou Sina
Wageningen 2006

1- Introduction générale

Chapitre 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1. La conservation des ressources phytogénétiques: une préoccupation internationale

Les ressources phytogénétiques, composantes de la biodiversité utilisée à diverses fins (agricole, médical, industriel, environnement, spirituel, culturel, écologique, etc.) et possédant de ce fait une valeur économique, sont capitales pour la survie de l'humanité. La biodiversité détermine la santé et l'équilibre de l'environnement de la planète et elle est source de sécurité économique et écologique pour les générations futures. Elle est à la base du développement durable (Nations Unies 1993, 2002).

Les ressources phytogénétiques sont en effet considérées comme la base biologique de la sécurité alimentaire de l'Homme en ce sens que toutes les plantes utilisées et cultivées aujourd'hui proviennent d'un processus de domestication. Cependant, la question de savoir comment mieux reproduire et conserver les espèces, les arbres et leurs graines a pendant longtemps constitué une préoccupation importante depuis que l'Homme a commencé à domestiquer les plantes, il y a environ 5 000 à 10 000 ans (Diamond 1997). S'il semblait toutefois facile de produire les graines en abondance, et donc d'exploiter les plantes, les premiers fermiers allaient en revanche se rendre compte assez vite que la conservation des végétaux (plantes, propagules, graines et autres produits) n'était pas toujours si évidente (Sacandé 2000). La sélection, la conservation et la régénération des meilleures plantes alimentaires et utilitaires ont toujours constitué le processus de mise au point des produits végétaux que nous utilisons. La conservation de la biodiversité est source de productivité. Ces techniques ont été perfectionnées au fil du temps, avec le développement et la maîtrise des connaissances scientifiques. L'utilisation des nouvelles technologies permet aujourd'hui d'améliorer considérablement la productivité des espèces végétales. En effet, de nos jours les fermiers et les sélectionneurs utilisent la diversité génétique des plantes pour produire des variétés agricoles, arboricoles et horticoles améliorées, résistantes aux maladies et aux insectes et mieux adaptées aux changements des conditions environnementales.

Pour satisfaire les besoins de la population mondiale qui devrait atteindre les 8 milliards d'ici à 2020, la production agricole devrait augmenter chaque année de 5 milliards de tonnes (FAO 1996). A cet effet, il est essentiel de conserver et d'utiliser de manière efficiente la diversité génétique végétale existante en vue de pouvoir répondre aux besoins de développement futur du monde (FAO 2001, Kameswara Rao 2004). Quant aux ressources génétiques dont recèlent les 3 870 millions d'hectares de forêts mondiales (FAO 2001), elles participent largement à la satisfaction des besoins alimentaires, énergétiques, médicinaux et culturels des communautés et contribuent pour une part importante aux économies locales et nationales des pays. Cependant, l'exploitation incontrôlée des forêts tropicales qui abritent plus de la moitié de toutes les espèces que compte notre planète, occasionne une perte accélérée des ressources génétiques. En effet la proportion des forêts détruites s'est accrue de 75 000 km² annuellement en 1979 à 132 000 km² en 1991 (Myers 1994) et on estime que jusqu'à 8% des espèces devraient disparaître des forêts au cours des 25 prochaines années à mesure que la déforestation se poursuit. Bawa & Dayanandan (1998) considèrent qu'en raison de l'ampleur et de l'irréversibilité des dégâts subis par les forêts tropicales, la perte effective et potentielle des espèces et de leurs écosystèmes constitue l'un des plus grands désastres environnementaux de notre temps. Pour leur part, Novacek & Cleland (2001) jugent la situation tragique du fait de l'échelle de temps extrêmement courte à laquelle la dégradation des écosystèmes et l'extinction des espèces se font. Jadis, les disparitions d'espèces se sont réalisées sur des millions d'années. Aujourd'hui, elles s'effectuent sur des siècles et même des décennies. Les chances

laissées aux espèces pour s'adapter à des changements si brusques sont faibles car les processus de sélection naturelle s'effectuent lentement. Cette tendance est également perceptible en Afrique où on enregistre une perte annuelle de 5,3 millions d'hectares de superficie forestière, l'équivalent de 0,78% de la superficie totale (FAO 2002). Dans les forêts humides d'Afrique Centrale, par exemple, on enregistre une augmentation constante de la surexploitation des forêts due au développement des cultures de rente, à l'urbanisation, à l'exploitation commerciale du bois d'œuvre et à l'exploitation minière. Cette destruction est considérée comme la cause principale de réduction potentielle de la diversité biologique avec des conséquences économiques et biologiques graves telles que la réduction du nombre d'espèces et de leur diversité génétique, les perturbations des interactions biotiques, des flux de nutriments et des processus des écosystèmes au niveau de la régulation du climat, les modifications du système de rétention de l'eau et de la prévention des inondations, de la conservation des sols, de la séquestration du carbone, de la pollinisation et de la conservation des ressources génétiques (Bawa & Dayanandan 1998, Ouédraogo 1999). Certains biologistes dont Myers & Knoll (2001) prédisent qu'à long terme, les extinctions d'espèces altéreront non seulement la diversité biologique, mais également les processus évolutifs qui génèrent et assurent le maintien de la diversité.

Face à l'ampleur de la dégradation et des besoins de conservation et de maintien des écosystèmes, les différents pays et la Communauté Internationale se mobilisent. Les pays développent de nouvelles politiques basées sur le concept d'aménagement et de gestion durable des forêts. Au niveau international, des milliers d'organisations engagées dans les actions de conservation (à l'exemple de FAO, IPGRI, IUCN, WWF, PNUE, RBG Kew, Danish Centre for Forest Landscape and Planning, Centre for Plant Conservation, CIRAD-Forêt, IUFRO, CIFOR (Centre pour la recherche forestière internationale), CIRAF (Conseil international pour la recherche en agroforesterie), Genetic Resources Action International, Tropical Conservancy, Conservation International, Earth Preservation Fund, Greenpeace, Greenforce, initient, appuient, coordonnent et/ou participent à des actions de gestion durable des ressources génétiques des espèces agricoles et forestières. En outre, la Convention des Nations Unies sur la Diversité Biologique à laquelle adhèrent plus de 180 pays, représente un instrument juridique international unique pour la protection et l'utilisation rationnelle de la diversité biologique. Elle reconnaît que la conservation de la diversité biologique est une préoccupation commune à l'humanité et fait partie intégrante d'un développement socio-économique durable.

Malgré l'adoption de multiples accords internationaux et le développement d'actions visant à faire face à la perte de la biodiversité, les ressources génétiques ne sont toujours pas réellement à l'abri et les problèmes semblent s'accélérer au point qu'aujourd'hui, l'ambition de la communauté internationale se limite à espérer ralentir cette accélération, plutôt que de l'arrêter, voire l'inverser. Pour faire face à ce constat inquiétant, un Plan d'action mondiale élaboré en parallèle par la FAO, pour réorganiser la conservation et l'utilisation durable des ressources génétiques a été adopté en juin 1996 par plus de 150 pays. L'érosion génétique et la perte de diversité génétique, qui accompagnent la dégradation des forêts sont d'autant dramatiques qu'elles concernent bien souvent des espèces dont on ignore tout de la biologie et de l'organisation génétique. En effet, l'érosion de la diversité spécifique et génétique est irréversible et constitue par conséquent une menace importante pour le développement durable et la qualité de la vie des générations futures.

1.2. Ressources phylogénétiques en Afrique de l'Ouest: cas des espèces des parcs arborés

La situation des ressources phylogénétiques est tout aussi préoccupante en Afrique de l'Ouest où la régression annuelle est estimée à 1,5% des superficies forestières. Dans sa partie humide, en dehors du développement des cultures de rente et de la surexploitation des forêts pour le bois d'œuvre qui expliquent en grande partie la déforestation, ce sont les incendies de forêts qui constituent l'un des

principaux obstacles à la conservation et à l'aménagement durable des forêts (FAO 2002). Bien que l'évaluation du niveau de menaces n'ait pas été fait selon les lignes directrices des critères de l'IUCN pour la Liste Rouge (2004), on notera par exemple qu'en Côte d'Ivoire, des menaces de disparition pèsent sur de nombreuses espèces dont une dizaine serait en voie d'extinction (Ake Assi 1999). En zones sèches, les causes de la pression sur les ressources génétiques sont essentiellement les mauvaises pratiques anthropiques (agriculture itinérante, surpâturage, coupe incontrôlée de bois vert, feux de brousse, etc.) conjugués aux effets drastiques de la sécheresse et dont les conséquences visibles sont la déforestation et la disparition de peuplements entiers de certaines espèces. Ainsi des espèces comme *Dalbergia melanoxylon* et *Pterocarpus lucens* seraient localement menacées de disparition alors que d'autres comme *Celtis integrifolia* et *Adenum obesum* seraient même en voie d'extinction au Burkina Faso (Guinko 1999), même si à l'échelle internationale ces espèces présentent un faible risque de menace (IUCN 2004).

Quant aux espèces des parcs arborés, caractéristiques des zones semi-arides d'Afrique de l'Ouest, elles se développent souvent en dehors des forêts, à proximité des champs ou des maisons d'habitation et les arbres bénéficient en général d'une meilleure protection que dans les forêts (Ouédraogo 1995). Le système de parcs agroforestiers dont la pratique existe depuis des siècles, associe harmonieusement arbres et cultures annuelles dans les champs. Parmi les espèces qui composent le paysage agroforestier des parcs sahéliens et soudano-sahéliens, on distingue principalement *Acacia senegal*, *Adansonia digitata*, *Anogeissus leiocarpus*, *Balanites aegyptiaca*, *Bombax costatum*, *Borassus aethiopicum*, *Diospyros mespiliformis*, *Elaeis guineensis*, *Faidherbia albida*, *Hyphaene thebaica*, *Lannea microcarpa*, *Parkia biglobosa*, *Sclerocarya birrea*, *Tamarindus indica*, *Vitellaria paradoxa* et *Ziziphus mauritiana*. Plusieurs travaux ont mis en évidence l'importance socio-économique et la nécessité de la conservation des parcs agroforestiers en Afrique de l'Ouest (Ouédraogo 1995, Ouédraogo & Alexandre 1996, Yossi & Kouyaté 2001, Bayala 2002, Teklehaimanot 2004a, 2004b, Nikiéma 2005). Ils sont le support de l'agriculture et de l'élevage, qui assurent l'essentiel des revenus des populations rurales et du secteur primaire. Dans certaines régions d'Afrique de l'Ouest, jusqu'à 75% de la récolte totale de produits ligneux et non ligneux proviennent des parcs agroforestiers (Boffa 2000). Cependant, la problématique de la conservation des ressources génétiques se pose avec la même acuité pour la majorité des espèces agroforestières des zones soudanienne et soudano-sahélienne. Les nombreux diagnostics faits dans les différents pays (Ouédraogo 1995, Boffa 2000) indiquent en effet une fragilisation des écosystèmes forestiers et une pression de plus en plus croissante sur les peuplements et les espèces dont les principales causes d'origines naturelle, technologique et socio-économique, peuvent se résumer ainsi: (i) la sécheresse, (ii) l'introduction de nouvelles pratiques culturelles peu soucieuses de la préservation de l'environnement, (iii) la croissance démographique se traduisant par une occupation des zones boisées pour les besoins de l'agriculture, la réduction de la durée de la jachère, (iv) la prévalence de la pauvreté des populations avec comme conséquence la surexploitation des ressources à des fins alimentaires et commerciales.

Parkia biglobosa (Jacq.) G. Don est probablement l'une des espèces des parcs arborés la plus répandue dans les zones soudano-sahélienne et soudanienne d'Afrique (Figure 1.1). Son aire de distribution se situe dans une bande entre 5°N et 15°N, et s'étend en longitude depuis la côte Atlantique en Afrique de l'Ouest jusqu'en Ouganda en Afrique de l'Est, soit approximativement entre le 18ème degré de longitude Ouest et le 30ème degré de longitude Est (Hopkins 1983, Bonkougou 1987, Hall et al. 1997). En dépit de leur importance et à l'instar des autres espèces de la savane, les parcs à néré sont caractérisés par une forte présence d'arbres relativement vieux, révélant une faible régénération des peuplements et une régression de l'aire de répartition dans les zones semi-arides (Ouédraogo 1995). En outre, le caractère extrêmement aléatoire du climat soudano-sahélien, marqué par des sécheresses récurrentes, rend vulnérables les espèces de la zone en général et expose les parcs agroforestiers en particulier à une dégradation continue. Considérée comme espèce prioritaire dans la plupart des pays ouest africains, *P. biglobosa* figure sur la liste nationale des espèces considérées vulnérables par le Ministère chargé des Forêts du Burkina Faso

(MEE 1999). Dans un tel contexte, la prise de mesures visant tout au moins à rompre la dynamique de dégradation sinon à inverser la tendance apparaît aussi urgente que vitale.

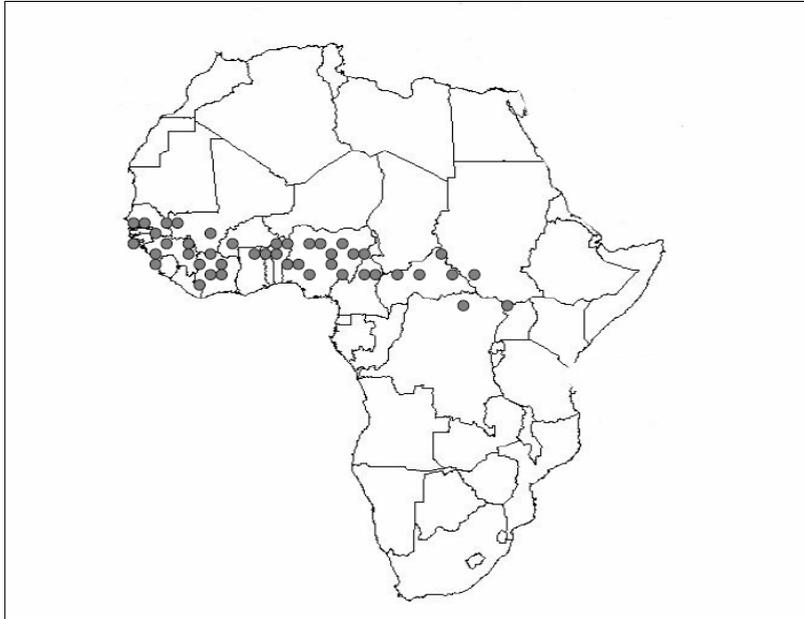


Figure 1.1. Distribution géographique de *Parkia biglobosa*. Une vingtaine de pays d’Afrique de l’Ouest (Bénin, Burkina Faso, Côte d’Ivoire, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée Bissau, Mali, Niger, Nigeria, Sénégal, Sierra Léone, Togo), du Centre (Cameroun, Centrafrique, Tchad, République Démocratique du Congo) et de l’Est (Soudan, Ouganda) abritent l’espèce. D’après Shao (2000).

1.3. *Parkia biglobosa* (Jacq.) G.Don

Espèce typique des parcs agroforestiers, répandue dans la savane soudanienne, *Parkia biglobosa* présente de multiples fonctions et constitue une source inestimable de biens et de services pour les communautés locales en Afrique de l’Ouest. Cette importance explique sans doute l’intérêt accordé à l’espèce à travers le nombre relativement élevé de travaux et la diversité des thèmes abordés. Les travaux réalisés concernent en effet des domaines aussi variés que la botanique, la sylviculture, l’agroforesterie, la socio-économie et l’ethnobotanie, l’amélioration génétique, la reproduction et la régénération, la physiologie ou les propriétés chimiques et biochimiques des produits du néré (voir différentes références ci-dessous).

1.3.1. Botanique

Communément appelé ‘néré’ (en bambara) dans plusieurs pays d’Afrique de l’ouest, arbre à farine, caroubier africain ou encore ‘african locust bean’ (Burkill 1995), *Parkia biglobosa*, est une espèce de la famille des Leguminosae, sous famille des Mimosoidea et de la tribu des Mimosae. Elle appartient au genre *Parkia* qui compte à ce jour environ 34 espèces répartis dans trois centres de diversité distincts en Amérique du Sud (18 espèces), en Afrique (quatre espèces dont une à Madagascar) et en Asie (12 espèces) (Hopkins 1983, 1986, Luckow & Hopkins 1995, Luckow 2005). Ce nombre est encore provisoire car il existe probablement des espèces non encore décrites

en Amérique du Sud, et pour lesquelles il manque cependant du matériel végétal d'assez bonne qualité pour la détermination. En outre, une espèce d'origine philippine connue seulement à partir du spécimen-type a peut-être maintenant disparu (Hopkins com. personnelle). Des quatre espèces africaines (*Parkia biglobosa* (Jacq.) G. Don, *Parkia bicolor* A. Chev., *Parkia filicoidae* Olivier et *Parkia madagascariensis* R. Viguier), seule *Parkia biglobosa* est caractéristique des savanes.

Les espèces africaines, exceptée *P. madagascariensis*, celle de Madagascar, se distinguent des autres espèces du genre par le type et la disposition des fleurs sur le capitule, la couleur et la forme des inflorescences, la taille des feuilles et la fusion de la corolle (Backer & Harris 1957, Luckow & Hopkins 1995). La diversité morphologique est plus élevée en Amérique du Sud, qu'en Asie et en Afrique où est elle moins importante. Les trois espèces d'Afrique continentale se caractérisent par la couleur rouge de leur capitule et la fusion de leur corolle (Luckow & Hopkins 1995) et se distinguent l'une de l'autre par une combinaison des caractères de leurs feuilles, capitules (nombre et taille des fleurs de différents types), gousses et graines. Bien qu'elle appartienne à la même section que les trois autres, *P. madagascariensis* qui est la moins bien connue, a des gousses de type différent (Hopkins 1983). La structure du pollen de *P. biglobosa* indique que les poliades sont de forme elliptique (85 μ de diamètre) et comptent jusqu'à 32 grains et l'ornementation de l'exine, la membrane externe du grain de pollen, est verruqueuse (Baker & Harris 1957, Feur et al. 1985).

1.3.2. Biogéographie

La biogéographie est l'étude de la répartition des êtres vivants dans la biosphère, de leur adaptation dans le temps et dans l'espace aux influences locales, de leurs migrations et des associations qu'ils constituent (Dansereau 1987). La datation de fossiles de pollen, la diversité des caractères morphologiques des différentes espèces et l'existence dans le Nouveau Monde (Amérique) d'espèces à pollinisation entomophile (insectes) au sein d'un genre plutôt chéiroptérochore (pollinisé par les chauve-souris) laissent supposer que les espèces du Nouveau Monde précèdent celles du Vieux Monde (Afrique) et que ces deux groupes auraient un ancêtre commun, originaire du Nouveau Monde (Backer & Harris 1957, Feur et al. 1985, Hopkins 1986, Luckow & Hopkins 1995). Ainsi le centre d'origine de *Parkia* serait l'Amérique du Sud. La présence à la fois d'espèces à pollinisation entomophile et d'espèces chéiroptérochores dans le Nouveau Monde témoignerait d'une évolution récente des premières vers les secondes. La distribution pantropicale de *Parkia* se serait faite à une période reculée, probablement avant l'Eocène (34 à 56 millions d'années avant notre ère) qui correspond à l'époque de la découverte des premiers fossiles de chauve-souris. D'une certaine manière, bien que précédant les chauve-souris, le genre *Parkia* a une histoire et une géographie qui semblent associées à celles de ces mammifères volants. En effet, la plupart des espèces sont effectivement pollinisées par les chauve-souris, faisant de *Parkia* l'un des groupes connus les plus riches en espèces chéiroptérochores (Luckow & Hopkins 1995). En outre, certains caractères morphologiques de l'inflorescence (cercle de nectar, exine verruqueuse, etc.) des espèces du genre *Parkia* semblent être particulièrement adaptés à la pollinisation par les chauve-souris.

De nos jours, *P. biglobosa* est une espèce des savanes soudaniennes et soudano-guinéennes répandue dans les champs et jachères, et présente dans une vingtaine de pays. Elle supporte un large éventail climatique, la principale constante étant en général une saison sèche de 5 à 7 mois par an. Ainsi, elle peut se développer dans des zones où la pluviométrie est comprise entre 500 mm en région sahélienne et 2200 mm en Guinée-Bissau avec des records de plus de 3500 mm en Sierra Leone et de 4500 mm en Guinée Conakry. Quoique préférant les sols limoneux profonds, *P. biglobosa* peut se rencontrer également sur des sols latéritiques peu profonds, des sols latéritiques épais, des buttes caillouteuses et des collines rocailleuses. L'espèce pousse dans des zones de températures moyennes annuelles comprises entre 26°C et 28°C et peut se retrouver à des altitudes allant du niveau de la mer (50 m - côte du Sénégal Gambie) jusqu'à 1350 m dans les Monts du Fouta Djallon en Guinée Conakry (von Maydell 1983, Hopkins & White 1984, Hall et al. 1997).

1.3.3. Biologie

Les observations réalisées par Backer & Harris (1957) et Hopkins (1983) ont permis d'établir une description détaillée de la biologie florale et de la pollinisation de l'espèce. Les capitules sont constitués de nombreuses fleurs (près de 2552) de trois types: fleurs fertiles (2206), fleurs nectarifères (261) et staminoides (85) (Hopkins 1983). A l'instar de *P. filicoidea* et de *P. bicolor* et peut-être de *P. madagascariensis*, *P. biglobosa* est une espèce chéiroptérochore. Elle est pollinisée par des chauve-souris frugivores de l'ordre des chiroptères, du sous-ordre des Mégachiroptères et de la famille des Pteropodidés (Megachiroptera: Pteropodidae) dont notamment *Epomophorus gambianus*, *Eidolon helvum*, *Nanonycteris veldkampii*, *Micropteropus pustuleuses*. Le comportement des chauve-souris de petite taille notamment, caractérisé par de fréquentes et brèves visites des fleurs sur différents arbres, comparable à celui observé par Backer & Harris (1957) sur *P. biglobosa*, a été décrit par Hopkins & Hopkins (1982) chez *P. nitida*, espèce sud américaine, comme une stratégie évolutive pour échapper aux éventuelles attaques de prédateurs dont les serpents. Ce comportement qui pourrait en outre favoriser une pollinisation efficace, peut avoir eu un effet important sur l'écologie de la pollinisation de *Parkia* (Hopkins & Hopkins 1982). D'autres pollinisateurs effectifs, des insectes notamment (abeilles, bourdons, guêpes, etc.) sont également répertoriés (Baker & Harris 1957, Ouédraogo 1995). L'anthèse est nocturne et dure une nuit (Hopkins 1983). *P. biglobosa* est une espèce diploïde dont le nombre exact de chromosomes reste toujours à élucider. Les nombres avancés sont de $2n = 24$ selon Mangenot & Mangenot (1957) et de $2n = 26$ selon Goldblatt (1981).

Parkia biglobosa est relativement facile à régénérer. Sa propagation se fait principalement par voie de semis des graines. La multiplication végétative, y compris la micro-propagation sont également des voies possibles de régénération de l'espèce (Teklehaimanot et al. 1996, 2000, Sanou et al. 2004, Oluwaseun & Awolowo 2005). Les semis de graines en pépinière se font généralement en pots. Leur entretien nécessite un arrosage régulier, un désherbage et un binage toutes les deux semaines, ce qui assure une bonne croissance des plantules. Au bout de 20 semaines d'élevage, les plantules mesurent entre 20 et 24 cm et peuvent être plantées (Nikiéma et al. 1993). En plantation, la croissance de l'espèce est relativement rapide et l'on obtient en un an des plants mesurant 1 m, et certains pieds parmi les meilleures provenances peuvent atteindre 7 m environ au bout de 6 ans. Un écartement de 10m x 10m est convenable pour un bon développement des plants. L'arbre commence à fleurir entre 5 et 7 ans alors qu'il est encore petit et n'atteindra sa taille définitive qu'entre 30 et 50 ans (Bonkougou 1987). Des essais comparatifs de provenances nationales et africaines installées par le CNSF du Burkina Faso en 1986 et 1995 ont permis de mettre en évidence les provenances les mieux adaptées aux conditions locales des stations.

1.3.4. Importance socio-économique

L'importance socio-économique de *P. biglobosa* s'explique par ses multiples fonctions alimentaires, agroforestières, médicinales et culturelles. Considérée dans plusieurs sociétés comme un symbole de paix, de l'harmonie de la vie sociale et du bien être des communautés, c'est une espèce dont les produits interviennent dans tous les rituels marquant les différentes étapes de la vie, c'est à dire naissance, baptême, excision, mariage, funérailles, etc. (Ouédraogo 1995). Les graines fermentées (*sumbala*, *netetu* ou *dawadawa*) riches en protéines et acides aminés essentiels (Ndir et al. 2000, Ouoba et al. 2003) et la pulpe de *P. biglobosa* riche en carbohydrates, sont en effet largement consommées par les populations rurales et urbaines et leur vente génère des revenus substantiels, pour de nombreuses femmes en particulier (Guinko & Pasgo 1992, Ki 1994, Ouédraogo 1995, Burkill 1995, Schreckenber 1999, Muhammad & Amusa 2003). L'analyse de la composition chimique et biochimique des produits du *P. biglobosa* indique que l'espèce possède de multiples propriétés ichtyotoxique, anti-diarrhéique, antiseptique, vasodilatateur, anti-coagulante, hypotenseur, anti-venimeuse, analgésique, anti-inflammatoire, etc (Kerharo & Adam 1974, Ake Assi & Guinko 1991, Assane et al. 1993, Nacoulma-Ouedraogo 1996, Bonnah et al. 1998, Ndir et

al. 2000, Kouadio et al. 2000, Asuzu & Harvey 2003, Omafuvbe et al. 2004). Ainsi, en Afrique de l'Ouest, les différents organes de l'arbre sont largement et diversement utilisés en médecine et pharmacopée traditionnelle soit en usage interne et/ou externe, soit en association avec d'autres plantes pour le traitement de plusieurs affections telles que les affections parasitaires, les affections de l'appareil circulatoire, celles de l'appareil respiratoire, de la peau et de la plupart des affections de l'appareil digestif.

Répartis à travers les champs et les jachères en zone soudanienne, les peuplements de *P. biglobosa* jouent un rôle important dans l'amélioration de la fertilité des sols et dans leur protection contre l'érosion éolienne et pluviale (Maïga 1987, Kessler 1992, Tomlinson et al. 1995, Timmer et al. 1996, Bayala et al. 2005). L'amélioration de la technologie de préparation du soubala, la mise sur le marché de produits de qualité standard répondant aux normes de sécurité sanitaire d'un produit alimentaire et surtout aux besoins des consommateurs, l'organisation et le développement des marchés locaux et nationaux (Teklehaimanot 2004a), de même que la vulgarisation des techniques de multiplication végétative de l'espèce constituent des moyens destinés à mieux valoriser et à susciter une meilleure protection de l'espèce.

1.4. Contexte et objectifs de l'étude

La présente étude qui porte sur la biologie de la reproduction et la diversité génétique de *Parkia biglobosa*, a été mise en œuvre dans le cadre d'un projet financé par l'Union Européenne, relatif à la «conservation de germoplasme et à l'amélioration de *Parkia biglobosa* (Jacq.) G. Don en vue de multiples utilisations». Pour la mise en œuvre, le projet a regroupé 5 institutions africaines et européennes dont le CNSF (Burkina Faso), le FRIN (Nigéria), l'Université de Bangor (Royaume Uni), l'Université de Wageningen (Pays Bas) et le CIRAD-Forêt (France). Constatant l'état de dégradation du néré à travers sa zone de distribution, en dépit de la contribution de ses ressources au développement socio-économique des communautés locales, le projet avait pour principaux objectifs de (i) récolter les semences de *P. biglobosa* à travers son aire de distribution en vue de la mise en place d'essais comparatifs de provenances en champ, de l'évaluation de la diversité génétique au laboratoire et la conservation *ex situ* des graines; (ii) développer des méthodes de propagation végétative en vue de multiplier les clones sélectionnés, destinés à l'amélioration génétique et à produire des plants performants dans le cadre des systèmes agroforestiers; (iii) évaluer le potentiel d'amélioration du sol par les pieds de *P. biglobosa* dans la savane ouest africaine; (iv) collecter des informations sur les utilisations, la valeur socio-économique et les méthodes traditionnelles de sélection et de gestion de l'espèce. Il convient de signaler que cette étude est a été développée à la suite de celle réalisée par Ouédraogo (1995) sur la variabilité morphologique de *P. biglobosa*.

Notre travail s'est déroulé donc dans un contexte marqué par une forte dégradation des ressources génétiques forestières en général et de celles de *P. biglobosa* en particulier. Par ailleurs, malgré la pertinence et la richesse des données générées par les différents travaux sur l'espèce et dont la finalité est de mieux valoriser les parcs à néré et d'assurer une conservation et une utilisation durables de leurs ressources au profit des générations actuelles et futures, il semble qu'il manquait à ce tableau quasi complet, des informations sur l'organisation génétique de l'espèce. En effet, en plus des informations sur les aspects socio-économiques et ethnobotaniques, la physiologie, les pratiques agroforestières, la sylviculture, la régénération, etc, la connaissance des paramètres de la biologie de la reproduction et de la diversité génétique d'une espèce est capitale, si l'on veut élaborer une stratégie appropriée de conservation de ses ressources génétiques. C'est grâce à la diversité génétique de la végétation forestière que les espèces peuvent continuer d'évoluer et de s'adapter au changement. La conservation de la diversité génétique assure le maintien de la productivité et de la résilience des écosystèmes forestiers et peut donc être considérée comme le fondement même de la diversité de toutes les espèces. Ceci a constitué l'objet de notre recherche

qui vise à générer les informations nécessaires à l'élaboration d'une stratégie de conservation durable, rentable et bien ciblé pour *P. biglobosa*, à même de piéger et d'assurer le maintien de la variation présente au sein de l'espèce pour pouvoir répondre aux changements futurs de l'environnement.

En effet, nous avons d'abord entrepris l'étude de la biologie de la reproduction de l'espèce, dont les résultats sont présentés au Chapitre 2. Elle vise à déterminer les différentes phases de la phénologie florale de l'espèce dans deux populations du Burkina Faso. Les paramètres du système de reproduction de l'espèce sont également estimés et l'impact de la phénologie florale sur le système de reproduction est évalué. Au Chapitre 3, nous analysons la diversité génétique de 64 populations provenant de 11 pays, en vue de déterminer les paramètres de génétique des populations de l'espèce et d'identifier les populations possédant des caractéristiques particulières (richesse allélique, taux d'hétérozygotie), susceptibles d'être sélectionnées dans le cadre de la conservation des ressources génétiques. L'impact du système de reproduction sur la structure génétique de l'espèce est également analysé. Les semences utilisées ont été récoltées par des équipes du CNSF avec l'appui des différentes structures nationales chargées des eaux et forêts des pays impliqués dans l'opération. En outre, nous portons un regard critique sur l'état et les conditions de conservation des collections de graines manutentionnées selon les pratiques du Centre National de Semences Forestières (Chapitre 4) en analysant les paramètres de la physiologie de semences conservées depuis près de 20 ans, et également de semences de 23 autres populations que nous avons sélectionnées parmi les 64 concernées par l'étude génétique. Ceci nous a fondé à faire des suggestions sur les bonnes pratiques dans le domaine de la gestion des banques de semences afin de garantir la longévité de telles graines pour la conservation et de l'utilisation durable de l'espèce. De l'analyse croisée de ces différents points, présentée dans la conclusion générale (Chapitre 5), nous discutons les implications et formulons des recommandations sur la stratégie de conservation la mieux appropriée pour *P. biglobosa* (Chapitre 5). Sur la base de l'analyse des données génétiques nous apportons également des éléments nécessaires à l'amélioration du système de récolte des graines de l'espèce en vue de la production de plants et de la conservation *ex situ* à long terme au CNSF. Enfin, en considérant les informations générées par notre travail d'une part et en se référant aux connaissances accumulées sur la diversité génétique des espèces déjà étudiées d'autre part, nous proposons un guide général d'échantillonnage pour les espèces soudano-sahéliennes, en attendant que la recherche scientifique génère des données précises sur ces différentes espèces.

2- Biologie de la reproduction

Résumé

Parkia biglobosa est une importante espèce agroforestière de la savane africaine, répartie depuis le Sénégal à l'Ouest jusqu'en Ouganda à l'Est. Une étude de la biologie de la reproduction de l'espèce dans une zone semi-aride au Burkina Faso a été entreprise en vue de déterminer les paramètres du système de reproduction. Deux peuplements de 153 et 209 arbres répandus dans des champs de culture respectivement à Bissighin et Nagaré ont fait l'objet d'un suivi phénologique hebdomadaire sur deux cycles saisonniers consécutifs. Les observations de la floraison et de la fructification ont établi que *P. biglobosa* a un profil de type saisonnier et se déroule principalement en saison sèche comme la plupart des espèces de la savane soudanienne. Bien qu'étalée sur près de 5 mois, la floraison se déroule de façon synchronisée pour la plupart des individus des 2 populations, comme l'indiquent les indices de synchronisme élevés de 0,78 pour Nagaré et de 0,79 pour Bissighin. Des graines issues de fécondation libre, ont été récoltées puis analysées au moyen de l'électrophorèse enzymatique. L'estimation des paramètres du système de reproduction en utilisant le programme MLTR (Multilocus Mating System) a montré que toutes les 2 populations présentent des taux d'allofécondation multilocus (tm) élevés, variant en moyenne entre 0,941 et 0,981 et des taux d'allofécondation monolocus se situant entre 0,892 et 0,962. L'examen des taux d'allofécondation de *P. biglobosa* aussi bien au niveau population qu'au niveau famille, dont la majorité des valeurs sont proches de 1, suggère que l'espèce présente un système d'auto-incompatibilité partielle, caractéristique répandue chez la plupart des espèces hermaphrodites. Les valeurs de tm-ts sont faibles (entre 0 et 0,086) et indiquent ainsi un faible apparentement entre les arbres récoltés dans les différentes populations. Quant aux corrélations de paternité, elles présentent des valeurs significativement élevées dans les 2 populations (entre 0,299 pour Bissighin et 0,502 pour Nagaré) traduisant la participation d'un nombre peu important de donneurs de pollen pour chaque arbre (2 à 3) dû sans doute à la forte implication des abeilles comme principaux pollinisateurs. Les facteurs d'origine génétique (protandrie, système d'auto-incompatibilité) et environnemental (niveau élevé de synchronisme floral) expliquent les valeurs élevées du taux d'allofécondation, ce qui laisse envisager un niveau de diversité génétique et un flux de gène important chez *P. biglobosa*.

Abstract

Parkia biglobosa is an important agroforestry species of the African savanna, distributed from Senegal in the West to Uganda in the East. We investigated the reproductive biology of the species in the semi-arid zone of Burkina Faso in order to understand its mating system. Two populations were selected in the villages of Bissighin and Nagaré and 153 and 209 trees, respectively, were monitored weekly during two seasonal cycles of fruit formation. The floral phenological survey showed a seasonal pattern, which occurs during the dry season, in the same way like most of the sudanian savanna species. Although the fruiting period lasts over about 5 months, the majority of the trees flowered synchronously as shown by the relatively high synchronism index values of 0.78 for Nagaré and 0.79 for Bissighin. Open pollinated seeds were then collected and analysed by the means of enzyme electrophoresis. The estimation of the mating system parameters using MLTR software programme, indicates high values of multilocus outcrossing (tm) for both population, between 0.941 and 0.981, and low but important rates of monolocus outcrossing (ts), between 0.892 and 0.9.62. The high rates of outcrossing (close to 1) at both population and family level, suggest that *P. biglobosa* presents partial self-incompatibility, which is a common feature to many hermaphrodite species. The low values of tm-ts (between 0 and 0.086) indicate a weak parental relationship between the trees that have been analyzed. The paternity correlation was high for both populations (rp = 0.299 for Bissighin and 0.502 for Nagaré), showing that each tree was pollinated by only two or three pollen donors. This is probably due to the involvement of bees as the main pollinators. Genetic factors such as protandry and self-incompatibility and environmental factor (high flowering synchronism index) may explain the high outcrossing rates, which presumably lead to high genetic diversity and high level of gene flow within the species *P. biglobosa*.

[Chapitre en préparation pour publication avec la collaboration de H.I. Joly, L.J.G. van der Maesen et M. Sacandé]

Chapitre 2

BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION de *Parkia biglobosa*

2.1. Introduction

La biologie de la reproduction d'une espèce décrit les processus qui permettent d'assurer sa perpétuation: phénologie florale, système de reproduction (systèmes sexuels, mécanismes d'incompatibilité, régime de reproduction, pollinisation, ect.). La connaissance de ces processus biologiques est capitale pour comprendre la dynamique des processus micro-évolutifs des espèces et optimiser la conservation et l'utilisation des ressources génétiques. En effet, le rôle des systèmes de reproduction est capital dans la structuration de la diversité génétique, la transmission de cette diversité de génération en génération et la détermination des niveaux de perte de cette diversité (Ritland 1989). Les profils de la phénologie florale observés dans la nature sont considérés comme le reflet de compromis évolutifs en réponse à une série de forces sélectives dont principalement les pollinisateurs et les prédateurs qui dispersent les graines (Brody 1997). La disponibilité de données détaillées sur les modes de floraison et de fructification est importante pour permettre une gestion rationnelle des ressources génétiques forestières et un échantillonnage approprié pour les besoins de collections de conservation *ex-situ* et pour planifier la récolte de semences les années au cours desquelles un maximum d'arbres fleurissent effectivement (Bawa & Ng 1990).

A l'échelle d'une population, la phénologie florale a une grande influence sur le mode de reproduction et peut être déterminante pour le niveau et la structure génétique d'une espèce, à travers les quantités de fruits produits (Boshier 2000). Plusieurs auteurs ont proposé des classifications des profils phénologiques des espèces tropicales. Par exemple, celle de Newstrom et al. (1994) comprend 4 classes de base définies selon la fréquence: continu (floraison permanente ponctuée de brefs arrêts), sub-annuel (déroulement de la floraison en plusieurs cycles par an), annuel (floraison en un cycle unique par an) et supra-annuel (cycle de floraison s'étalant au-delà d'une année). Ainsi, à un extrême, on a les espèces dont les individus produisent de grandes quantités de nouvelles fleurs chaque jour, pendant une semaine au moins, et à l'autre extrême les espèces dont les individus produisent quotidiennement de petites quantités de nouvelles fleurs pendant plusieurs mois. Les variations phénologiques observées dans le temps sont quelquefois considérées comme une stratégie d'adaptation écologique et physiologique des espèces à leur environnement, et sont susceptibles de promouvoir l'allopollinisation (Boshier 2000). Par contre, les variations dans l'espace sont elles souvent imputables aux facteurs climatiques, la phase de floraison étant plus longue dans les zones humides, ce qui peut favoriser les décalages phénologiques entre les arbres.

Quant au système de reproduction, les estimations de certains paramètres, le taux d'allofécondation en particulier, sont souvent requises pour planifier les programmes d'amélioration, de conservation et de gestion des arbres tropicaux (Loveless 1992). Les espèces végétales présentent des systèmes de reproduction assez variés. Brown (1989) en distingue cinq modes principaux: (i) les espèces majoritairement autogames (avec un taux d'allofécondation $(t) \leq 1$); (ii) les espèces majoritairement allogames (avec un taux d'autofécondation $(s) \leq 0,05$); (iii) les espèces à régime de reproduction mixte; (iv) les espèces à système d'apomixie facultative ou obligatoire; et (v) les espèces à système d'autofécondation intragamète ou haploïde. Le système de reproduction des espèces est influencé par une série de facteurs génétiques et environnementaux. Parmi les facteurs génétiques, on compte les caractéristiques florales (arbre dioïque, monoïque ou hermaphrodite), le degré de protandrie, le degré d'auto-incompatibilité avant la fécondation (O'Malley & Bawa 1987, James et al. 1998) et un possible déterminisme génétique de ce caractère. Les facteurs environnementaux sont relatifs à l'identité, l'abondance des pollinisateurs et leurs mouvements (Franceschinelli & Bawa 2000, Dunphy et al. 2004, Lobo et al. 2005), la densité des arbres

reproducteurs, l'intensité et le synchronisme de la floraison et les décalages phénologiques entre reproducteurs (Murawski et al. 1990, Murawski & Hamrick 1991, Franceschinelli & Bawa 2000, Neel et al. 2001), et les facteurs qui induisent une survie différente entre zygotes allofécondés et zygotes autofécondés. Des variations temporelles et spatiales du système de reproduction de plusieurs espèces ont été rapportées par certains auteurs (Pascarella 1997, Liengsiri et al. 1998, Millar et al. 2000, Rocha & Aguilar 2001a, O'Connell et al. 2001, Ribeiro & Lovato 2004). De même, les effets de la fragmentation des forêts sur le système de reproduction, et dont les principales manifestations sont la réduction de la taille effective des populations et la modification des modes de dispersion du pollen, ont été mis en évidence par divers d'auteurs (Hall et al. 1996, Doligez & Joly 1997a, Liengsiri et al. 1998, Rocha & Aguilar 2001b, Quesada et al. 2004, Fuchs et al. 2004).

En vue de mieux répondre aux impératifs de conservation et de gestion durable des espèces forestières tropicales en particulier, un nombre de plus en plus important de travaux relatifs à la biologie de la reproduction de ces espèces sont ainsi conduits principalement dans les zones tropicales humides d'Amérique et dans une moindre mesure d'Asie. D'une manière générale, ces études ne font pas de lien entre les variations spatiales et temporelles de la phénologie florale d'une part, et la diversité génétique et les systèmes de reproduction des espèces d'autre part (Lepsch-Cunha & Mori 1999). Pour ce qui concerne les travaux de phénologie, ils ont été pour la plupart entrepris au niveau des communautés d'espèces ou des éco-systèmes (Gomez 1993, Borchert 1994, Sun et al. 1996, Williams-Linera 1997, de Bie et al. 1998, Devineau 1999, Chapman et al. 1999, Justiniano & Fredericksen 2000, Ramirez 2002). Très peu de travaux en revanche, ont concerné les niveaux de la population et des individus (Augspurger 1983, Ouédraogo 1995, Damstra et al. 1996, Rocha & Aguilar 2001a, Hall et al. 1996). Une proportion importante d'études sur la biologie de la reproduction des espèces des zones tropicales sèches et de la zone soudano-sahélienne d'Afrique en particulier, ont porté sur les aspects écophysiologiques, notamment les relations eau-sol-plante-climat (Frankie et al. 1974, Poupon 1979, Grouzis & Sicot 1980, Borchert 1994)

L'objet de la présente étude est de:

- déterminer les différentes phases de la phénologie florale de *Parkia biglobosa* dans deux populations et évaluer l'impact de la phénologie florale sur le système de reproduction;
- estimer les paramètres du système de reproduction de l'espèce, notamment le taux d'allofécondation et les paramètres de corrélations en vue de mieux comprendre les flux de gènes entre populations et la structure génétique de l'espèce;
- examiner les niveaux de variations spatiales et temporelles du système de reproduction et déterminer les facteurs responsables de ces variations.

2.2. Matériel et méthode

2.2.1. Sites d'études

L'étude de la biologie de la reproduction a été entreprise dans les peuplements de Bissighin et de Nagaré, localités situées aux environs de la ville de Ouagadougou, et séparées l'une de l'autre d'une vingtaine de kilomètres. Les parcs agroforestiers de *Parkia biglobosa* de cette zone portent l'empreinte de l'homme car ils correspondent à des jachères récentes, à des terres en culture ou à des terres qui, suite à une exploitation intensive, sont devenues impropres à l'agriculture. La ville de Ouagadougou se situe en zone soudano-sahélienne caractérisée par l'alternance de deux saisons contrastées: une longue saison sèche, froide de novembre à février, et chaude de mars à mai, et une saison pluvieuse de juin à octobre. La pluviométrie annuelle moyenne est inférieure à 800 mm (entre 600 mm et 800 mm). De 1992 à 1995, la pluviométrie enregistrée a été respectivement de 698,7 mm; 750,6 mm; 682,2 mm et 700 mm (Direction de la Météorologie Nationale, 2001). Les

températures varient entre 16-20°C pendant la période la plus froide (janvier) et 40-43°C pendant les moments les plus chauds (avril-mai). La ville se trouve à une altitude de 300 m et s'étend entre 1°28 à 1°36 de longitude ouest et de 12°20 à 12°26 de latitude nord.

Dans chacun des deux peuplements tous les arbres adultes ont été repérés, numérotés à la peinture, mesurés (circonférence à hauteur de poitrine) et cartographiés (voir Figures 2.1a et 2.1b). Les distances entre les arbres varient entre 2,3 m et 240,2 m à Bissighin et entre 1,8 m et 392,1 m à Nagaré. La circonférence des arbres se situe entre 0,6 m et 5,2 m à Bissighin et entre 0,5 m et 4,3 m à Nagaré. Le peuplement de Bissighin a la particularité d'être localisé au sein du village dont il porte le nom. Il compte 153 arbres adultes répartis entre les maisons d'habitation. L'occupation de cette terre, autrefois réservée aux activités agricoles, est le résultat de la démographie galopante constatée ces dernières années. La superficie du peuplement est estimée à 10 hectares et la densité est estimée à environ 15 arbres à l'hectare. Quant au peuplement de Nagaré dont la superficie est d'environ 30 hectares et la densité estimée à 14 arbres/ha, il est localisé à proximité d'un petit village de quelques habitants. Il compte 209 arbres adultes. Il est relativement moins perturbé mais reste exposé tout de même à d'éventuelles coupes d'arbres d'origine inconnue. D'une manière générale les arbres sont inégalement répartis dans chacun des deux peuplements avec des zones de densité variable. La proximité de la ville soumet ces deux peuplements à une intense exploitation des fruits, notamment celui de Nagaré dont l'accès est quasiment libre.

2.2.2. Méthode

2.2.2.1. Suivi phénologique

Le profil de la phénologie florale d'une espèce végétale peut être caractérisé par sa période d'installation, sa durée et son synchronisme. Des observations phénologiques ont été réalisées en vue de collecter les données nécessaires à l'estimation de ces paramètres. Le suivi phénologique a été conduit en 1994 et 1995 dans les deux populations. Les observations ont été faites régulièrement chaque semaine entre fin janvier et fin juin, période correspondant à la floraison et à la fructification de *Parkia biglobosa*.

a) Phases phénologiques

Deux (2) phases phénologiques ont été observées: la floraison et la fructification.

- La floraison est subdivisée en 4 stades qui sont:

- . F11: bouton
- . F12: capitules gonflés
- . F13: capitules bien développés
- . F14: capitules en fleurs

- La fructification compte 4 stades:

- . Fr1: nouaison
- . Fr2: fruits en développement
- . Fr3: fruits verts bien développés
- . Fr4: fruits mûrs

Des notes entre 0 et 4 ont été affectées à chaque stade d'observation

- 0: absence de l'organe
- 1: moins de 25% des branches portent l'organe
- 2: 25 à 50% des branches portent l'organe
- 3: 50 à 75% des branches portent l'organe
- 4: plus de 75% des branches portent l'organe

Burkina Faso

Répartition spatiale de *Parkia biglobosa* (Néré)
Village de Nagaré

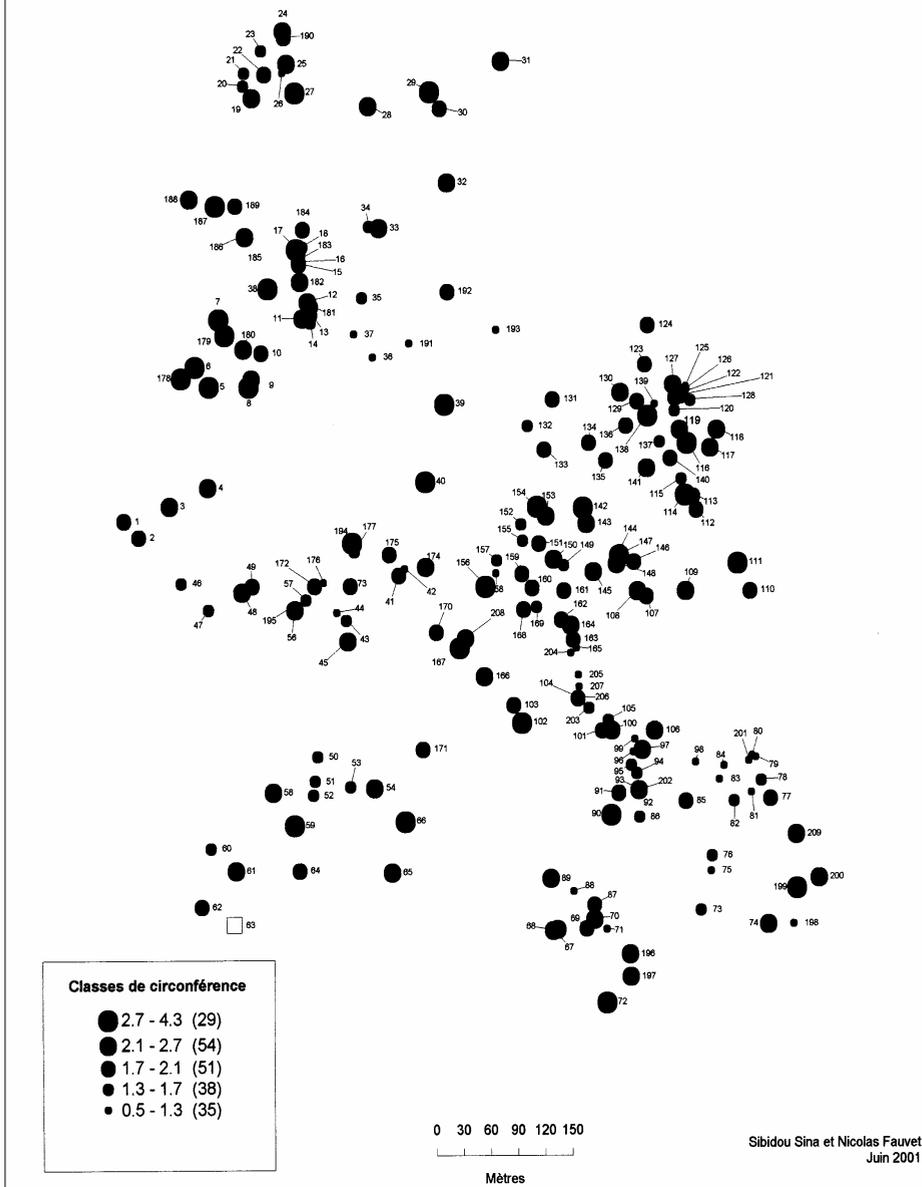


Figure 2.1a. Répartition spatiale des arbres de Nagaré. Les 209 arbres répertoriés sont répartis en 5 classes de circonférence comprise entre 0,5 m et 4,3 m. Les individus dont la circonférence varie entre 2,1 m et 2,7 m (54) constituent la classe la plus représentative de la population. Les plus gros arbres (29) dont la circonférence se situe entre 2,7 m et 4,3 m sont les moins nombreux.

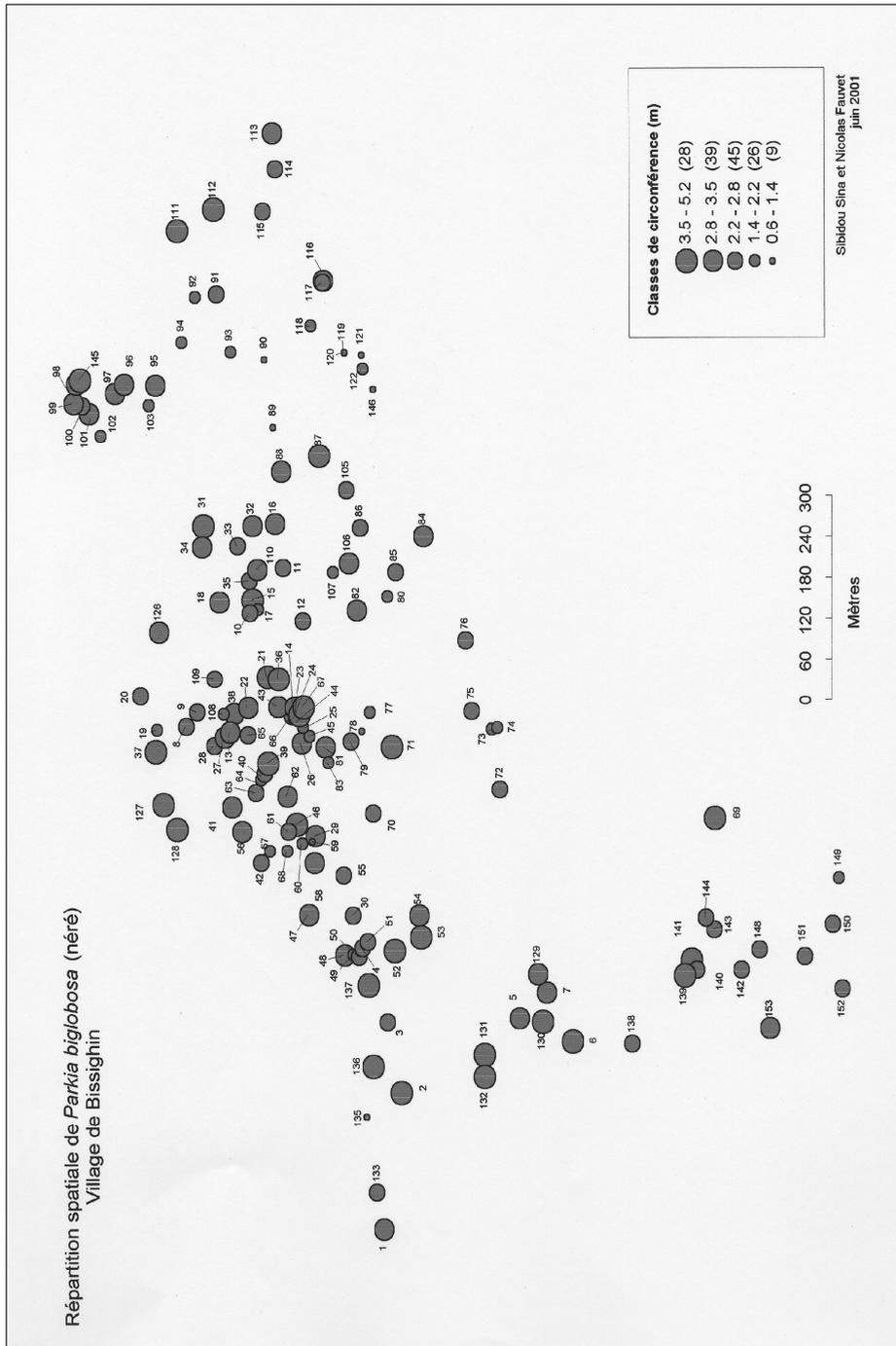


Figure 2.1b. Répartition spatiale des arbres de Bissighin. Les 153 arbres répertoriés sont répartis en 5 classes de circonférence. Les individus dont la circonférence est comprise entre 2,2 m et 2,8 m (45) et ceux dont la circonférence se situe entre 2,8 m et 3,5 m (39) sont les plus représentatifs de la population. Les jeunes pieds dont la circonférence est comprise entre 0,6 et 1,4 m sont très faiblement représentés.

b) Synchronisme de la floraison

Le synchronisme est estimé par un indice défini comme le ratio entre la durée moyenne d'une phase phénologique pour un individu et la durée totale de la même phase dans la population. L'indice de synchronisme floral d'un arbre est calculé par rapport aux autres arbres de la population. Il mesure la superposition de la durée de la floraison d'un individu avec la durée de la floraison de tous les autres individus de la population. Soit X_i , l'indice de synchronisme d'un individu i , il est défini par la relation (Augsburger 1983):

$$X_i = (1/(n-1)) \sum_{j=1}^{e_j \neq i} e_j / f_i$$

où:

e_j = nombre de jours durant lesquels i et j fleurissent de façon synchronisée, avec $j \neq i$; f_i = nombre de jours de floraison de l'individu i ;

n = nombre d'individus de la population.

Si $X_i = 1,0$ le synchronisme floral est parfait. C'est-à-dire que la période de floraison de l'individu considéré coïncide avec la période de floraison de chaque individu $j \neq i$ dans la population.

Si $X_i = 0,0$ le décalage phénologique est total. Il n'y a pas de superposition de la période de floraison de l'arbre i avec n'importe quel autre individu $j \neq i$ dans la population.

L'indice de synchronisme Z de la population est la mesure de la superposition de la durée totale de la floraison de tous les individus avec la durée de la floraison de chaque individu de la population.

$$Z = (1/n) \sum_{i=1} X_i$$

Dans la présente étude, nous avons choisi de déterminer les indices de synchronisme floral de 3 individus par population pour les observations de l'année 1995 uniquement, en raison du nombre élevé d'arbres dans les 2 populations, qui rendrait fastidieux l'estimation de ces indices pour l'ensemble des individus que comptent les 2 populations (153 et 209). Les 3 individus par population ont été sélectionnés en fonction de leur appartenance à l'une des 3 catégories suivantes: (i) les arbres à floraison précoce, (ii) les arbres qui fleurissent au même moment que la plupart des autres arbres de la population (médians), et (iii) les arbres dont la floraison est tardive. Il convient de préciser que c'est le stade F14 de la floraison (capitules en fleurs) qui a été considéré pour le classement des arbres en 3 catégories. Pour avoir un ordre de grandeur de l'indice de synchronisme floral des populations de *Parkia biglobosa*, nous avons procédé de la manière suivante:

- Nous avons tout d'abord défini de manière arbitraire les 3 catégories d'arbres sur la base de leur date d'entrée en floraison. Ainsi la catégorie précoce regroupe les individus dont la floraison est au stade F14 à la date du 13 février à Nagaré (18 individus soit 9% de l'effectif de la population) et le 22 février à Bissighin (10 individus soit 7%). La catégorie des individus médians se compose des arbres dont la floraison se situe entre le 14 février et le 18 avril à Nagaré (172 individus soit 85%) et entre le 23 février et le 27 avril à Bissighin (129 individus soit 87%). Dans la catégorie tardive, les arbres atteignent le stade F14 à partir du 14 mars à Nagaré (12 individus soit 6%) et à compter du 23 mars à Bissighin (8 individus soit 5%).

- Puis un individu représentatif de chaque catégorie a été sélectionné et son synchronisme floral a été estimé. Pour la population de Bissighin nous avons retenu l'arbre N°95 (précoce) dont la floraison s'étale du 3 février au 30 mars, l'arbre n°130 (médian) dont la période de floraison est comprise entre le 9 mars et le 13 avril et l'arbre n°116 (tardif) qui fleurit du 30 mars au 18 mai. Pour la population de Nagaré, on compte l'individu n°118 (précoce) dont la floraison s'étale du 1^{er} février au 21 mars, l'individu n°29 (médian) du 1^{er} février au 21 mars et l'individu n°78 tardif du 14 mars au 18 avril.

- L'estimation de l'indice de synchronisme au niveau d'une population (Z) a été en appliquant la formule suivante: si X_i , X_j , X_h sont les indices respectifs des individus précoces, médians et tardifs, et p, q et r le nombre respectif d'individus précoces, médians et tardifs, alors $Z = (pX_i + qX_j + rX_h)/n$, n étant le nombre d'individus de la population. On peut remarquer que cette méthode sous-estime quelque peu la valeur réelle de l'indice de synchronisme floral des populations car elle ne prend pas en compte les individus précoces dont une partie de la période de floraison coïncide avec celle des individus médians.

c) Mode de récolte des fruits

Au cours des années 1994 et 1995, les fruits destinés à l'analyse du système de reproduction ont été récoltés dans les sites de Bissighin et de Nagaré au fur et à mesure de leur maturité sur les différents arbres. Ainsi les premières gousses mûres issues de fécondation libre, ont été systématiquement récoltées les premières.

2.2.2.2. Système de reproduction

Une espèce présente rarement un mode unique de reproduction. Pour caractériser le système de reproduction d'une espèce ou d'une population, il faut non seulement déterminer la proportion de zygotes qui sont issus d'autofécondation, d'allofécondation et/ou d'apomixie parmi les descendants, mais aussi décrire la composition du nuage de pollen allofécondant et le régime de production. Le régime de reproduction décrit la manière dont les gamètes males et femelles s'assemblent vis à vis du (ou des) gène(s) considéré(s) pour former la génération diploïde suivante.

a) Analyse enzymatique

En vue de la détermination des paramètres du système de reproduction, une analyse enzymatique a été faite. A cet effet, neuf (9) graines par arbre mère ont été analysées selon le protocole d'électrophorèse décrit au Chapitre 3. Ainsi pour l'année 1994, 765 descendants appartenant à 89 familles de la population de Bissighin et 1152 descendants de 127 familles de Nagaré ont été effectivement analysés. En 1995, 90 familles comportant 804 descendants à Bissighin et 127 familles comptant 1332 descendants à Nagaré ont été analysés. Cinq locus polymorphes mis au point (Aap2, Aap3, Acp3, Acp4 et Skd) ont été utilisés pour l'analyse des paramètres du système de reproduction.

b) Paramètres du système de reproduction

L'estimation multilocus des paramètres du système de reproduction a été faite en utilisant le programme MLTR (Multilocus Mating System), une méthode d'estimation de l'allofécondation multilocus développée par Ritland (2002). Cette méthode est basée sur la méthode d'estimation du maximum de vraisemblance de reproduction de Ritland & Jain (1981) décrite pour deux modèles de croisement chez les plantes (autofécondation et reproduction mixte combinant autofécondation et allofécondation) et dont les hypothèses d'application sont:

- ségrégation indépendante des allèles aux différents locus;
- chaque locus est en équilibre de Hardy Weinberg;
- homogénéité du pool pollinique entre les arbres maternels;
- les marqueurs génétiques utilisés ne sont affectés ni par la sélection ni par la mutation entre la pollinisation et le temps d'évaluation des descendants.

L'estimation des paramètres du système de reproduction se base également sur le modèle de corrélation de la reproduction de Ritland (1989). Ce modèle sépare la corrélation d'autofécondation et la corrélation allofécondation et constitue une approche de l'analyse de la paternité adaptée aux grandes populations avec peu de locus analysés. Le programme MLTR permet ainsi d'estimer simultanément trois catégories de paramètres:

(i) les paramètres de consanguinité

- tm: taux d'allofécondation multilocus estimé pour l'ensemble des locus
- ts: taux d'allofécondation monolocus calculé pour chaque locus

Les taux d'allofécondation varient théoriquement de $t = 0$ (autofécondation complète) à $t = 1$ (allofécondation dans un échantillon aléatoire des populations de pool pollinique). Les valeurs significativement plus faibles que 1 indiquent un degré de consanguinité, peut-être dû à une autofécondation ou à un croisement entre individus apparentés. Les valeurs significativement plus élevées que 1 sont dus à des croisements préférentiels entre individus non apparentés.

- tm-ts: désigne le taux de croisement consanguin. En l'absence de croisement consanguin, tm et ts auront la même valeur alors qu'en présence de croisement consanguin, ts aura une valeur plus faible que tm.

- F: indice de fixation de Wright pour la population des mères. Dans une population en équilibre, ce qui est rarement le cas des populations d'arbres forestiers, le taux d'allofécondation est lié à l'indice de fixation par la relation (Ritland 1986):

$$t = (1-F) / (1+F)$$

- Les génotypes maternels sont estimés par itération sur la base du parent le plus probable selon la méthode de Brown & Allard (1970), recommandée pour les familles de grande taille (au moins 8 descendants).

(ii) les paramètres de corrélation

- rt: corrélation d'allofécondation. Ce paramètre indique la corrélation du taux d'allofécondation au sein des descendants d'une progéniture. Des valeurs élevées de ce paramètre sont obtenues quand la probabilité d'autofécondation n'est pas aléatoire entre les arbres; certains individus de la population ne se reproduisent que par autofécondation. Quand rt prend la valeur 1 les paires d'arbres frères sont soit auto soit allofécondés.

- rp: corrélation de paternité: corrélation de pères allofécondés au sein du tableau des descendants ou encore proportion de plein frères au sein des paires de frères allofécondés. Elle désigne la probabilité que 2 graines allofécondées tirés au hasard d'une même famille soient pleins frères. Ce paramètre sert d'indicateur de la variation des fréquences alléliques du pollen reçu par chaque arbre. La valeur de rp est estimée par la relation (Ritland 1989):

$$rp = 2 / (1+F) f$$

où F désigne l'indice de fixation des parents, f la corrélation des gamètes paternels. Puisque rp vaut au plus 1, la valeur maximale de f est de $(1+F)/2$.

Si pour un individu donné, on compte n proches voisins, si chaque voisin a une probabilité égale d'être le père (donneur de pollen) et si les croisements sont indépendants (impliquant des visites séparées de pollinisateurs), alors la probabilité d'alloféconder deux fois le même voisin est de $1/n$. Ainsi la corrélation de paternité est inversement liée au nombre de parents allofécondants (n) par la relation $rp = 1/n$ où n est le nombre effectif de donneurs de pollen (Ritland 1989). Seul ce paramètre de corrélation sera considéré dans la présente étude.

(iii) Autres paramètres

- p: fréquences alléliques du nuage pollinique et du pool d'ovules pour les différents locus, estimées séparément ou en moyenne.

L'estimation des paramètres t , F , r_t et r_p s'est faite selon la méthode de Newton-Raphson, comme recommandée par Ritland (2002). La méthode dite « Expectation-Maximization » pour maximiser l'équation de vraisemblance, encore appelée méthode de comptage des gènes, a permis d'estimer les fréquences alléliques du pollen et des ovules.

2.3. Résultats

2.3.1. Phénologie de la floraison et de la fructification

Le stade F1 4 de la floraison correspond au stade de maturité sexuelle des organes mâles et femelles de la fleur et est pris en compte pour l'analyse de la phénologie florale. Le dépouillement des fiches de suivi phénologique a permis de relever les points suivants:

Floraison

Pour les deux populations étudiées, la phase de floraison s'installe globalement à partir de la troisième semaine du mois de janvier. Elle se poursuit généralement jusqu'en mi-mai, s'étalant pratiquement sur 4 mois. La floraison se déroule principalement pendant la saison sèche. Le profil phénologique est de type annuel, le cycle de floraison étant unique dans l'année. Le stade F14 de la floraison pendant lequel les capitules sont en fleurs et qui correspond à la période de maturité sexuelle des organes reproducteurs, s'installe en début février dans les 2 populations soit environ 2 semaines après le début de la floraison. On note toutefois une proportion plus importante d'individus précoces dans la population de Nagaré par rapport à celle de Bissighin quelle que soit l'année (Figure 2.2). Ainsi par exemple, on compte 79 individus (39% de l'effectif de la population) et 54 individus (27%) en fleurs en mi-février respectivement en 1994 et en 1995 dans la population de Nagaré contre seulement 16 arbres (11%) et 10 arbres (7%) à la même période à Bissighin.

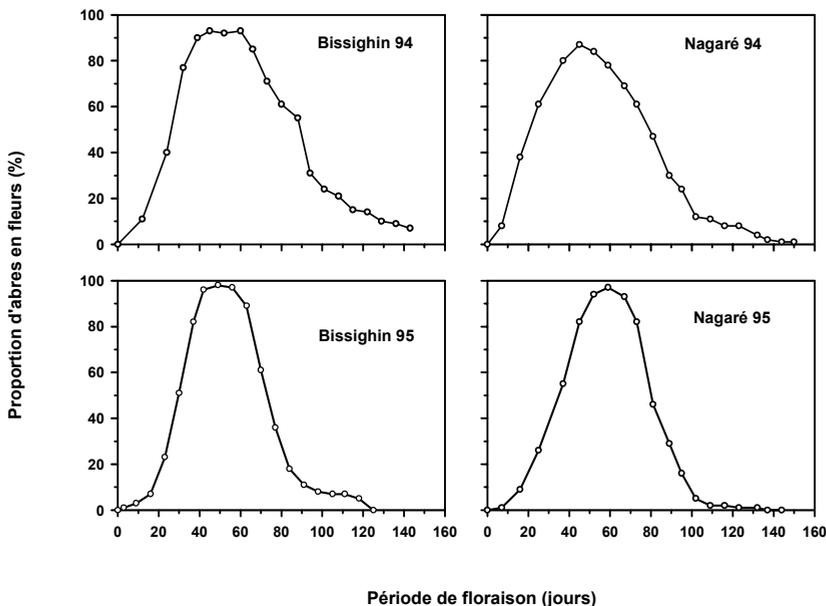


Figure 2.2. Diagramme floral des populations de *Parkia biglobosa* de Bissighin et de Nagaré, observées au cours de deux saisons (1994-1995). Chaque point sur les graphiques représente une observation. Les observations de la floraison sont relatives ici au stade (F14) quand les capitules portent des fleurs développées dans les 2 populations.

Des variations sont également notées au niveau de la période optimum de floraison. En 1994, l'essentiel de la floraison s'est déroulée entre début mars et mi-avril avec un pic en mi-mars dans la population de Nagaré. De 80% à 90% des arbres portaient alors simultanément des capitules en fleurs (Figure 2.1). Pendant la même année, la majorité des arbres (entre 86% et 94% de l'effectif total) dans la population de Bissighin étaient en fleurs au stade F14 entre mi-mars et mi-avril, avec un pic en début avril. La même tendance a été observée en 1995. En effet l'optimum de la floraison se situe entre fin février et fin mars pour Nagaré (82 % à 97% de la population en fleurs) et entre début mars et début avril dans la population Bissighin où on recense de 88% à 98% des arbres en fleurs. De ces données, il ressort que:

- la durée de la période optimale de floraison (F14) est d'environ un mois, généralement en mars. L'essentiel des appariements entre organes mâles et femelles se font pendant cette période;
- il apparaît que la période de floraison au stade F14 coïncide pour la majorité des arbres dans les deux populations;
- Les différents stades de la floraison se chevauchent, résultant de la formation continue de nouvelles fleurs, ce qui explique l'étalement de la période de floraison (4 mois);
- la floraison s'installe toujours plus tôt dans la population de Nagaré quelle que soit l'année.

Fructification

Elle s'étale globalement sur une période de 4 mois de mi-février à mi-juin. D'une manière générale, la maturité des fruits s'installe plus précocement dans la population de Nagaré (fin mars en 1994 et en 1995) qu'à Bissighin (première semaine d'avril en 1994 et 1995). La majorité des arbres (plus de 80%) portent des fruits mûrs dans la période de mi-avril à mi-juin dans les 2 populations. Cette période correspond au meilleur moment pour la récolte des gousses. La fructification se situe pratiquement vers la fin de la saison sèche. Il faut signaler qu'une pluie a été enregistrée en début juin en 1994 et en mi-mai en 1995 dans les 2 populations sans incidence notable apparente sur le déroulement de la phénologie, compte tenu de l'état avancé de la phénologie des arbres qui se trouvaient presque tous en état de fructification.

En 1994, 96 arbres reproducteurs ont fait l'objet de récolte à Bissighin et 128 arbres à Nagaré. Au cours de l'année 1995, ce sont 111 arbres qui ont été récoltés à Bissighin et 164 arbres à Nagaré. Les gousses récoltées ont été maintenues séparées par arbre puis ont été ensuite décortiquées en vue d'extraire les graines destinées à l'analyse du système de reproduction.

Synchronisme floral

L'indice de synchronisme floral varie de 0,313 pour l'individu tardif à 0,849 pour l'individu dont la floraison se déroule en même temps que la plupart des autres individus dans la population de Bissighin en 1995. Il varie de 0,524 (individu précoce) à 0,822 pour l'individu dont la floraison coïncide avec les autres. Au niveau de la population, les indices estimés sont respectivement de 0,793 pour Bissighin et de 0,779 pour Nagaré. Ce niveau d'indice est relativement élevé et indique que d'une manière générale, on a une bonne superposition des périodes de floraison des différents arbres les uns par rapport aux autres. Les détails sont présentés dans le Tableau 2.1. Les indices de synchronisme floral sont de valeur comparable pour les 2 populations. Au niveau individuel, ceux des arbres précoces et tardifs sont relativement plus bas à Bissighin qu'à Nagaré. La durée de la floraison étant variable (de 14 jours à plus de 70 jours) entre les individus d'une même population, on observe également une variation intra-population des indices de synchronisme.

Observation générale

La floraison est généralement abondante, mais des chutes plus ou moins massives de fleurs de tous les stades et même de fruits au stade de nouaison sont enregistrées chaque année. Ces pertes sont souvent accentuées par le passage de vents violents d'harmattan et des vents ayant accompagné les deux pluies enregistrées en 1994 et 1995.

Tableau 2.1. Synchronisme floral de 6 arbres observés dans les 2 populations en 1995. Ces arbres représentatifs ont été sélectionnés selon la période de floraison précoce, médiane et tardive. Les indices estimés des 2 populations sont en caractère gras dans le Tableau. Xi = indice de synchronisme floral d'un individu et Z = indice de synchronisme floral d'une population.

Arbres	Type de floraison	Période de floraison F14	Xi	Z
B95096	Précoce (7%)	3 février-30 mars (55 jours)	0,469	
B95130	Médian (88%)	9 mars-13 avril (35 jours)	0,313	
B95116	Tardif (5%)	30 mars-18 mai (49 jours)	0,849	
N95118	Précoce (9%)	1 février-21 mars (49 jours)	0,822	
N95002	Médian (85%)	28 février-4 avril (35 jours)	0,550	
N95078	Tardif (6%)	14 mars-18 avril (35 jours)	0,524	
Bissighin 1995	-	-	-	0,793
Nagaré 1995	-	-	-	0,779

Tableau 2.2. Paramètres du système de reproduction de *Parkia biglobosa* dont les arbres ont été observés pendant deux saisons (1994-5) dans les peuplements de Bissighin et de Nagaré. Les paramètres des populations totales ont été calculés pour permettre de comparer les variations d'une saison à l'autre.

Population	Locus	Familles	Descendants	tm	Ts	Tm-ts	F	rp
Bissighin 1994	Aap2	86	747	0,873	0,787	0,086	-0,007	0,299
	Aap3	86	747					
	Acp3	87	758					
	Acp4	85	730					
	Skd	88	753					
Bissighin 1995	Aap2	91	805	0,924	0,899	0,026	-0,098	0,319
	Aap3	89	790					
	Acp3	85	751					
	Acp4	86	759					
	Skd	91	805					
Nagaré 1994	Aap2	128	1153	0,956	0,961	-0,005	-0,034	0,447
	Aap3	128	1153					
	Acp3	117	1054					
	Acp4	115	1036					
	Skd	125	1126					
Nagaré 1995	Aap2	147	1323	1,001	1,027	-0,026	-0,091	0,502
	Aap3	147	1323					
	Acp3	136	1224					
	Acp4	133	1197					
	Skd	146	1314					
Total 1994 (Nag94+Bis94)		217	1917	0,941	0,892	0,013	-0,007	0,328
Total 1995 (Nag95+Bis95)		238	2136	0,981	0,962	0,008	-0,059	0,391

2.3.2. Analyse du système de reproduction

Quatre vingt onze arbres sur un total de 153 recensés ont été effectivement analysés pour le peuplement de Bissighin contre 147 arbres sur un total de 209 dans le peuplement de Nagaré. Les résultats de ces analyses montrent des niveaux élevés de taux d'allofécondation et de corrélations de paternité au niveau des 2 populations (Tableau 2.2).

Taux d'allofécondation

Les valeurs du taux d'allofécondation (tm) varient de 0,837 pour la population de Bissighin en 1994 à 1,001 pour la population de Nagaré en 1995. Au niveau de la population totale, les taux d'allofécondation sont de 0,941 en 1994 et 0,981 en 1995. Ces valeurs sont relativement élevées et

indiquent nettement que l'espèce présente un régime de reproduction majoritairement allogame. En moyenne, seulement 5% des descendants sont issus d'autofécondation.

De même, des valeurs élevées ont été trouvées pour les taux d'allofécondation monocus et se situent entre 0,787 pour Bissighin 1994 à 1,027 pour la population de Bissighin 1995. Pour la population totale, elles sont de 0,892 et 0,962. Les différences entre les taux d'allofécondation multilocus et monocus sont faibles et varient de 0 pour la population de Nagaré (années 1994 et 1995) à 0,086 pour la population de Bissighin en 1994. Ceci traduit un faible apparentement entre les arbres récoltés dans les différentes populations. On peut constater que d'une d'année à l'autre les taux d'allofécondation varient au sein d'une même population et entre les populations. On note par ailleurs des différences entre les familles dont les taux d'allofécondation multilocus varient de 0,226 à 1,435 pour la population de Bissighin 1994, de 0,238 à 1,343 pour Bissighin 1995, de 0,209 à 1,437 pour Nagaré 1994 et de 0,393 à 1,468 pour Nagaré 1995.

Les indices de fixations affichent des valeurs négatives se situant entre -0,098 (Bissighin 1995) à -0,007 (Bissighin 1994). Ces valeurs ne sont pas significativement différentes de 0 et indiquent que les populations sont en équilibre panmictique.

Corrélation de paternité rp

Les valeurs des corrélations de paternité varient entre 0,299 pour la population de Bissighin 1994 à 0,502 pour Nagaré 1995. Cette dernière valeur est relativement élevée, traduisant un nombre peu important de donneurs de pollen pour chaque arbre. En effet, ceci correspond à 3 arbres contributeurs de pollen à Bissighin contre seulement 2 dans la population de Nagaré.

Les génotypes maternels déduits des génotypes des descendants sont présentés en Annexe 1a et Annexe 1b.

Tableau 2.3. Comparaison des fréquences alléliques du pollen et des ovules des deux populations en 1994 et 1995.

Locus	Allèle	Bissighin94		Bissighin95		Nagaré 94		Nagaré 95	
		Pollen	Ovule	Pollen	Ovule	Pollen	Ovule	Pollen	Ovule
aap2	1	0,011	0,000	0,069	0,050	0,008	0,020	0,007	0,037
	2	0,868	0,860	0,874	0,839	0,937	0,870	0,956	0,882
	3	0,106	0,140	0,044	0,111	0,055	0,098	0,036	0,078
	4	0,014	0,000	0,013	0,000	0,001	0,012	0,002	0,003
	5	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
aap3	1	0,040	0,084	0,046	0,178	0,008	0,024	0,028	0,071
	2	0,797	0,781	0,841	0,706	0,947	0,843	0,934	0,760
	3	0,142	0,135	0,101	0,083	0,043	0,134	0,039	0,166
	4	0,018	0,000	0,013	0,033	0,002	0,000	0,000	0,003
	5	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
acp3	1	0,016	0,056	0,001	0,011	0,000	0,000	0,000	0,007
	2	0,497	0,416	0,224	0,583	0,881	0,350	0,890	0,122
	3	0,477	0,528	0,772	0,400	0,119	0,650	0,110	0,868
	4	0,008	0,000	0,003	0,006	0,000	0,000	0,000	0,003
	5	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
acp4	1	0,146	0,399	0,185	0,461	0,071	0,701	0,019	0,797
	2	0,708	0,517	0,704	0,439	0,907	0,252	0,827	0,152
	3	0,126	0,067	0,094	0,100	0,022	0,047	0,154	0,051
	4	0,017	0,006	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	5	0,003	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
skd	1	0,211	0,213	0,202	0,261	0,133	0,350	0,250	0,422
	2	0,722	0,697	0,651	0,517	0,837	0,602	0,719	0,507
	3	0,045	0,073	0,123	0,211	0,024	0,028	0,019	0,044
	4	0,013	0,011	0,011	0,006	0,001	0,012	0,013	0,014
	5	0,010	0,006	0,011	0,006	0,005	0,008	0,000	0,014
	6	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

2.4. Discussion

Parkia biglobosa est une espèce des savanes soudanienne et soudano-sahélienne répandue dans les parcs agroforestiers. Les parcs arborés à néré dont la dynamique reste liée en partie aux activités anthropiques, contribuent au développement socio-économique de nombreuses communautés locales. Ceci est notamment le cas des peuplements des villages de Nagaré et Bissighin dans lesquels le suivi phénologique a mis en évidence un niveau de synchronisme floral élevé d'une part et l'analyse des paramètres du système de reproduction a révélé un taux d'allogécondaction important d'autre part. Les variations et les implications de ces paramètres biologiques sont discutées ci-dessous.

Profil et variations phénologiques

La phénologie de *Parkia biglobosa* dont le profil est de type annuel ou saisonnier se déroule principalement en saison sèche. C'est un profil typique de la zone de savane où une seule floraison est notée chaque année. Les contraintes liées à la disponibilité d'eau en quantité importante peuvent expliquer ce comportement phénologique. Par ailleurs, cette tendance à fleurir et à fructifier en saison sèche semble être commune aux espèces de la savane et des zones tropicales sèches (Augspurger 1983, Devineau 1999), contrairement aux zones arides sahélo-soudanienne où les phases végétatives et de reproduction se déroulent pour la plupart des espèces en saison pluvieuse.

Les observations phénologiques ont montré que la floraison était légèrement précoce dans la population de Nagaré (une dizaine de jours d'écart) quelle que soit l'année considérée. La relative similitude écologique et l'apparente ressemblance pédologique des deux populations géographiquement proches l'une de l'autre, expliqueraient la faible amplitude des variations enregistrées. Les variations phénologiques sont souvent perçues comme des formes d'adaptation aux conditions environnementales locales, mais seraient aussi déterminées par des contraintes phylogénétiques (Grouzis & Sicot 1980). La précocité de la population de Nagaré pourrait être attribuée à des conditions de sols plus favorables à la rétention de l'eau pour l'alimentation des arbres. Un niveau de précocité variable en fonction de la pluviométrie a par aussi été mis en évidence pour 3 populations de *Parkia biglobosa* localisées dans 3 stations climatiques différentes, les stations les plus humides étant les plus précoces Ouédraogo (1995).

Frankie et al. (1974) ont établi que la phénologie de la feuillaison, de la floraison et de la fructification des arbres tropicaux était contrôlée par un certain nombre de facteurs dont la température, la lumière, la pluviométrie et l'humidité relative. Il semble toutefois qu'à la différence des espèces des zones tempérées, dont la phénologie est sous l'influence de la température, la phénologie des espèces tropicales en général n'est pas directement contrôlée par les variations saisonnières du climat, à l'exception de la pluviométrie (Borchert 1994, Damstra et al. 1996). Le régime thermique étant relativement constant dans la zone sahélienne, la disponibilité en eau du sol constitue en effet le facteur limitant (Grouzis & Sicot 1980, Sina 1990). Borchert (1994) estime pour sa part que la variation saisonnière de l'état de l'eau contenue dans l'arbre serait le principal facteur déterminant de la phénologie et de la répartition des arbres dans les zones tropicales sèches. Il apparaît donc que la pluviométrie constitue un élément capital et déterminant des profils et des comportements phénologiques des espèces dans les zones soudanienne et soudano-sahélienne.

Régulation de la production par la chute de fleurs

Une chute relativement importante de fleurs à tous les stades de développement a été observée au cours des 2 années d'observation. Ces chutes de fleurs sont également mentionnées par Hopkins (1983) et Ouédraogo (1995). Au stade F14 de la floraison, les arbres portent des inflorescences bien développées, constituées autour des capitules qui pendent au bout des pédoncules. Chaque capitule compte jusqu'à 2206 fleurs fertiles (Hopkins 1983). Au regard de ce nombre impressionnant de fleurs, on se serait attendu à une production de fruits élevée par capitule. Au lieu de cela, on a des capitules qui comptent pas plus de 25 gousses (Bonkougou 1987, Hall et al. 1997). Une des causes

de ce faible rendement pourrait être due à la chute des fleurs, accentuée en zone soudano-sahélienne par les vents d'harmattan. Ce comportement pourrait obéir à un besoin de régulation naturelle de la floraison et de la fructification chez *Parkia biglobosa*. Les arbres ajusteraient ainsi la quantité de fleurs et de fruits en fonction de la disponibilité de leurs réserves nutritives. Par ailleurs, la charge serait tout à fait insupportable pour l'arbre si toutes les fleurs fertiles évoluaient en fruits.

Synchronisme floral

Les données sur le déroulement des phases et stades phénologiques indiquent que la majorité des arbres de chacune des 2 populations (au moins 80%) fleurissent (stade F14) pendant la même période. Les individus à floraison précoce et tardive ne représentent en moyenne moins de 20% de l'effectif total de la population (Tableau 2.1). Les indices de synchronisme floral estimés pour *Parkia biglobosa* sont relativement élevés (0,78-0,79), confirmant ces observations. En effet bien que relativement étalée dans le temps (3 à 4 mois), la floraison se déroule de façon simultanée pour un nombre important d'arbres au sein de chaque population.

En outre, l'examen de l'ordre dans lequel les arbres entrent en floraison indique clairement que la floraison a tendance à s'installer au sein de groupes d'individus assez proches géographiquement les uns des autres et s'étend de proche en proche à toute la population, ce qui favorise des échanges de gènes entre les arbres. Aussi, il est très rare d'observer dans une population des individus isolés fleurissant tout seul pendant une période excédant une semaine. Il est très probable que la majorité des fleurs de ce type avorteront, faute de fécondation. Ceci semble renforcer l'hypothèse d'une intervention limitée des chauve-souris et le rôle primordial des insectes (abeilles, bourdons, etc.) plus adaptés aux déplacements de courte distance, dans la pollinisation de ces 2 populations péri-urbaines de *Parkia biglobosa* en zone soudano-sahélienne.

Des indices de synchronisme floral de niveau comparable aux nôtres ont été estimés par Devineau (1999) pour *Parkia biglobosa*, mais au niveau d'une communauté d'espèces dans la savane soudanienne burkinabé. Les valeurs sont de 0,6; 0,8 et 0,8 respectivement au niveau de l'espèce (4 sites), au niveau inter-site et au niveau intra-site. La famille des Leguminosae à laquelle appartient *Parkia biglobosa* présenterait en majorité une faible plasticité phénologique, c'est-à-dire qu'elles ont une durée de floraison courte et un synchronisme de la floraison et de la fructification marqué, contrairement aux Combrétacées par exemple dont la phase de floraison est particulièrement étalée. Les données sur le synchronisme phénologique des espèces de la savane soudanienne et soudano-sahélienne sont encore très rares. L'indice de synchronisme floral de *Parkia biglobosa* a été alors comparé à celui d'un certain nombre d'espèces tropicales d'Amérique du Sud et de certaines espèces de zones tempérées.

La plupart des espèces des forêts sèches néotropicales auraient une floraison et une fructification synchronisées (Justiniano & Fredericksen 2000). Ainsi, des indices de synchronisme floral au niveau des populations, comparables à ceux de *Parkia biglobosa*, ont été estimés pour six espèces de forêts tropicales par Augspurger (1983): *Pentagonia macrophylla* (0,48); *Erythrina costaricensis* var. *panamensis* (Standl.) Croat (0,50); *Turnera panamensis* (0,77); *Psychotria horizontalis* (0,82); *Hybanthus prunifolius* (0,89) et *Rinorea sylvatica* (0,95). Des valeurs du même ordre de grandeur sont estimées pour *Petrocoptis grandiflora*, espèce méditerranéenne de la Péninsule Ibérique, variant entre 0,459 et 0,952 selon les individus (Guitian & Sanchez 1992); elles sont comprises entre 0,25 et 1,00 chez *Hormathophylla spinosa*, autre espèce méditerranéenne de haute montagne (Gomez 1993).

Le synchronisme de certaines espèces peut être aussi affecté par des facteurs environnementaux. Ainsi, on enregistre un accroissement du synchronisme floral chez *Erythrina poeppigiana* quand le niveau de sécheresse augmente (Augspurger 1983). Le synchronisme floral élevé serait le résultat d'une pression sélective en faveur de la pollinisation croisée chez les espèces auto-incompatibles et pour l'attraction des pollinisateurs alors que l'absence de synchronisme

pourrait être le résultat d'une forte compétition entre arbres pour les pollinisateurs (Augsburger 1983, Guitian & Sanchez 1992).

Chez *Parkia biglobosa*, un potentiel de fécondation croisée important dû en partie à sa biologie florale (protandrie, système d'auto-incompatibilité) (voir paragraphe suivant), associée à une forte capacité d'attraction des pollinisateurs pourraient être en rapport avec son niveau élevé de synchronisme. Le déploiement des inflorescences rouge-vifs, l'émission de fortes odeurs et l'abondance de nectar peuvent être considérés comme une stratégie développée par l'espèce pour faire face à la compétition pour les pollinisateurs en vue d'assurer le succès de sa reproduction. Ceci pourrait expliquer le fait que contrairement à plusieurs espèces de la savane soudano-sahélienne, *Parkia biglobosa* maintient une production régulière et relativement importante de fruits.

Pour survivre, les espèces semblent chacune avoir développé une stratégie propre. Chez *Petrocoptis grandiflora*, la floraison de chaque individu subit une pression sélective pour coïncider avec la floraison des autres arbres de la population, qui correspond à la période où les pollinisateurs sont les plus actifs (Guitian & Sanchez 1992). Quant à *Ficus thonningii*, il a une phénologie florale étalée sur toute l'année, car une rupture de floraison entraînerait la disparition de la population de pollinisateurs que sont les guêpes, et compromettrait du coup la reproduction de l'espèce jusqu'à la reconstitution de nouvelles colonies de guêpes (Damstra et al. 1996). Les indices élevés de synchronisme floral constituent un facteur d'accroissement de la fécondation croisée et pourraient donc contribuer à accroître les taux d'allofécondation chez *Parkia biglobosa*.

Un fort taux d'allofécondation

Le taux d'allofécondation obtenu dans la présente étude (tm moyen compris entre 0,941 et 0,981) s'avère quasiment identique à celui estimé expérimentalement sur le terrain par Ouédraogo (1995) avec un taux d'autofécondation estimé à 6% et est du même ordre de grandeur que celui estimé pour plusieurs autres espèces tropicales: *Carapa guianensis* dont le tm varie entre 0,967 et 0,986 (Hall et al. 1994a); *Cedrela odorata* et *Jacaranda copaiai*: tm vaut respectivement 0,969 et 0,982 (James et al. 1998); *Pithecellobium pedicellar*: tm = 0,951 (O'Malley & Bawa 1987); *Trichilia tuberculata*: tm = 1,077, *Quararibea asterolepis* et *Sorocea affinis* avec tm = 1,008 (Murawski & Hamrick 1991); *Acacia aroma*: tm se situe entre 0,914 et 1,000 et *Acacia macracantha* avec tm variant de 0,977 à 1,000 (Casiva et al. 2004); *Acacia crassicarpa*: tm entre 0,930 et 0,990; *Acacia auriculiformis* avec tm compris entre 0,920 et 0,930 (Moran et al. 1989a); *Eucalyptus marginata*: tm varie entre 0,71 et 0,92 (Millar et al. 2000). D'autres espèces exhibent des valeurs moins élevées, comme *Moringa oleifera* avec tm = 0,740 (Muluvi et al. 2004); *Cavanillesia platanifolia*: tm varie de 0,213 à 0,569 (Murawski & Hamrick 1992a); *Ceiba pentandra*: tm = 0,623 et 0,683 (Lobo et al. 2005, Murawski & Hamrick 1992b); *Carapa procera*: tm = 0,780 (Doligez & Joly 1997a). Il apparaît que l'allofécondation est répandue chez les arbres tropicaux. Doligez & Joly (1997a) présentent une synthèse de travaux qui indique que sur 18 espèces d'arbres tropicaux répertoriés, 12 ont un taux d'allofécondation supérieur à 0,80. De même chez les conifères, le pourcentage de plantules viables issues d'autofécondation ne dépasse pas 10% en général. De nombreux mécanismes semblent favoriser l'allofécondation chez les arbres tropicaux: la dioecie, la protandrie, l'hétérostylie et l'auto-incompatibilité.

L'examen des taux d'allofécondation de *Parkia biglobosa* aussi bien au niveau population qu'au niveau famille, dont la majorité des valeurs sont proches de 1, laisse supposer que l'espèce présente un système d'auto-incompatibilité partielle, caractéristique répandue chez la plupart des espèces hermaphrodites. Les essais de pollinisation manuelle réalisés par Ouédraogo (1995) ont révélé des rendements très faibles de l'autopollinisation, confirmant l'hypothèse d'un système d'auto-incompatibilité chez cette espèce. Une corrélation significativement positive entre les taux d'allofécondation et le degré d'auto-incompatibilité a été établie chez certaines espèces dont *Eucalyptus globulus* (Patterson et al. 2004). Outre le mécanisme d'auto-incompatibilité, deux autres facteurs peuvent être évoqués pour expliquer le taux d'allofécondation élevé:

- La biologie florale de *Parkia biglobosa* décrite comme une espèce andromonoïque, avec des individus portant à la fois des fleurs hermaphrodites et des fleurs mâles, peut contribuer à développer l'allogamie. En outre un niveau de protandrie assez marquée pour les fleurs hermaphrodites a été observé par Backer et Harris (1957), Hopkins (1983). La dichogamie favorise en effet la fécondation croisée.

- La densité des arbres reproducteurs dans les populations de *Parkia biglobosa*. La densité relativement élevée des arbres reproducteurs dans les 2 populations (environ 15 arbres/ha) peut être un élément favorable à la fécondation croisée. En plus les données de la phénologie florale indiquent un niveau de synchronisme élevé, facteur également propice à la pollinisation croisée.

En effet, l'abondance locale d'une espèce et le synchronisme floral des individus de la population sont susceptibles d'affecter le taux d'allofécondation, même chez les espèces ayant un système d'auto-incompatibilité (O'Malley & Bawa 1987, Murawski et al. 1990). Ainsi, pour des espèces telles *Helicteres brevispira*, *Cavanillesia platanifolia*, *Ceiba pentandra*, *Carapa guianensis*, *Quararibea asterolepis*, le taux d'allofécondation est positivement corrélé à la densité des arbres reproducteurs de la population (Murawski & Hamrick 1991, Murawski & Hamrick 1992ab, Hall et al. 1994a, Franceschinelli et al. 2000). Chez d'autres espèces par contre telle *Ardisia escallonioides*, l'augmentation du nombre de reproducteurs est négativement corrélé avec les taux d'allofécondation (Pascarella 1997). Il semble par ailleurs que le comportement des abeilles, en quête permanente d'aliments entre les arbres, est également de nature à promouvoir la fécondation croisée chez certaines espèces (Augspurger 1983). En définitive il apparaît que l'allofécondation ou le système d'auto-incompatibilité sont flexibles et sont réduits pour les espèces dont les populations ont des densités extrêmement faibles. A l'inverse, les espèces qui ont des densités élevées d'arbres, comme c'est le cas pour les populations de Nagaré et Bissighin, exhibent des taux d'allofécondation très élevés dus au système d'auto-incompatibilité, à une compétition au niveau du pollen et/ou à un avortement sélectif des individus autofécondes (Murawski & Hamrick 1991).

Les variations spatiales et temporelles du taux d'allofécondation observées chez *Parkia biglobosa* pourraient être le fait d'une variation du niveau d'auto-incompatibilité entre les arbres, ou d'une variation du comportement des pollinisateurs effectifs. Il convient de remarquer que le taux d'allofécondation est toujours plus important dans la population de Nagaré qu'à Bissighin, quelle que soit l'année considérée. Il se pourrait que la localisation du peuplement de Bissighin au sein même du village, avec les arbres répartis entre les maisons d'habitation, ait un impact négatif sur l'abondance et/ou le comportement des agents pollinisateurs. La question se pose de savoir si la nature et l'intensité des activités socio-économiques des villageois peuvent perturber d'une manière ou d'une autre les activités des pollinisateurs efficaces que sont principalement les abeilles. Il se pourrait que l'utilisation de certains produits (insecticides) ou encore la présence humaine en permanence perturbe les activités des abeilles, qui peuvent se traduire par un manque de dynamisme de celles-ci, une perte d'orientation ou même une migration de certaines vers d'autres zones.

D'une certaine manière, l'envahissement progressif de ce peuplement par le village, du fait d'une vague migratoire assez récente et de la croissance démographique peut s'apparenter à une forme de fragmentation ou de perturbation même si des arbres ne sont pas encore systématiquement détruits. Les variations du taux d'allofécondation sont particulièrement perceptibles au sein et entre les différentes familles avec des valeurs de t_m (descendants) comprises entre 0 et 2. On sait par définition, que les valeurs de t sont comprises entre 0 et 1. Les valeurs extrêmes (au-dessous de 0 et celles comprises entre 1 et 2) sont généralement le résultat d'erreur d'échantillonnage, ce qui est très probablement le cas dans la présente étude, compte tenu du mode de récolte appliqué. Ces valeurs, notamment celles supérieures à 1, peuvent être obtenues par exemple quand des croisements préférentiels entre individus non apparentés se font au sein d'une population, violant ainsi l'hypothèse d'un croisement aléatoire du modèle de croisement mixte (Ritland & El-Kassaby 1985).

Corrélation de paternité (rp)

Il existe dans la littérature encore assez peu de données sur ce paramètre de corrélation, le nombre moyen de reproducteurs contribuant à la fertilisation d'un semencier donné. De façon inattendue, la présente étude révèle une corrélation de paternité assez élevée, indiquant une implication d'un nombre réduit de donneurs de pollen. En effet, de 30% à 50% de paires de descendants allofécondés de chaque famille sont pleins frères, ce qui représente entre 2 et 3 arbres au niveau du pool paternel de reproduction. Des résultats comparables ont été estimés pour *Eriogonum ovalifolium*, un arbuste à système de reproduction préférentiellement allogame avec rp compris entre 0,35 et 0,67 (Neel et al. 2001), pour *Senna multijuga* (tm = 0,830) avec rp = 0,309 (Ribeiro & Lovato 2004) et pour *Mimulus guttatus*, une herbacée périannuelle, avec rp variant entre 0,21 et 0,44 (Ritland 1989). Des valeurs plus élevées de rp ont été trouvées pour *Jacaranda copaiai* et *Stemmadenia donnell-smithii* avec respectivement rp = 0,785 et 0,970, contrairement à *Cedrela odorata* dont rp n'est que 0,159 (James et al. 1998).

Ritland (1989) attribue la valeur relativement élevée de la corrélation de paternité chez *Mimulus guttatus* à la faible distance de transport du pollen par les bourdons ou à des croisements répétés entre voisins proches. La variation des valeurs de rp dans les populations naturelles est souvent attribuée à la phénologie florale des arbres, l'état d'isolement des arbres, le comportement des pollinisateurs et la présence d'autres espèces (Rocha & Aguilar 2001b). Deux facteurs majeurs, les vecteurs de pollinisation et le système de récolte des semences pourraient expliquer les niveaux et la variation de la corrélation de paternité, observés chez *Parkia biglobosa*:

- L'identité et les mouvements des pollinisateurs effectifs: si comme cela est vraisemblable, le rôle des chauve-souris dans la pollinisation est secondaire dans la zone soudano-sahélienne pendant la période de floraison du néré (Ouedraogo 1995), l'implication des hyménoptères (abeilles: *Apis mellifera*; bourdons: *Monomorium pharaonis*, ect.) comme principaux vecteurs de pollinisation peut expliquer le faible nombre de donneurs de pollen, dû à une dispersion limitée du pollen dans l'espace par ces insectes. Leurs déplacements se feraient entre un petit nombre d'arbres voisins. Boshier et al. (1995) et Hamrick & Murawski (1990) estiment que pour les espèces d'arbres de forêt tropicale humide, la majorité des croisements effectifs se font entre arbres proches, avec un petit nombre de pères et une variation importante de la composition du nuage pollinique quand la pollinisation est assurée par des insectes, et notamment les abeilles. Chez certaines espèces, le nombre d'arbres visités par les pollinisateurs restent fonction de la disponibilité des inflorescences nectarifères. Ainsi quand la ressource se fait rare, le comportement des pollinisateurs aura tendance à développer la géitonogamie, autopolinisation résultant du croisement entre fleurs différentes du même individu, et dont une des conséquences évidente est le nombre réduit de contributeurs de pollen par arbre (Maad & Reinhammar 2004).

- Le système de récolte adopté: les fruits ont été récoltés au fur et à mesure de leur maturité sur les arbres. Ainsi les premiers fruits mûrs sur chaque arbre ont été toujours les premiers à être récoltés. Au moins les fruits récoltés en début et en fin de saison ont très logiquement été pollinisés par un nombre réduit de parents, en raison de leur précocité ou de leur retard de floraison. Par ailleurs, en raison de leur faible quantité (entre 5 et 20 gousses) et du mode de prélèvement (souvent sur un seul rameau), les fruits récoltés ne pouvaient constituer un échantillon représentatif de chaque arbre. L'échantillonnage appliqué pour la récolte des gousses expliquerait en partie le faible nombre de donneurs de pollen pour chaque individu.

L'analyse des paramètres de la biologie de la reproduction a révélé que *Parkia biglobosa* a un système de reproduction majoritairement allogame, dû principalement à des facteurs génétiques (protandrie, système d'auto-incompatibilité) et à des facteurs environnementaux dont notamment un indice de synchronisme floral élevé. La valeur élevée du taux d'allofécondation de l'espèce laisse envisager un niveau de diversité génétique et un flux de gène important au sein de l'espèce.



3- Diversité génétique

Résumé

Parkia biglobosa est une espèce à fonctions multiples, caractéristique des parcs arborés de la savane soudanienne et largement répandue en Afrique de l'Ouest et du Centre. De sérieuses menaces pèsent toutefois sur le développement de cette espèce de grande importance socio-économique dont l'organisation génétique n'est pas encore connue. Nous avons étudié sa diversité génétique au moyen de l'électrophorèse enzymatique en vue de mettre en évidence les populations possédant des caractéristiques particulières pour la conservation des ressources génétiques. Des graines issues de fécondation libre, récoltées sur 1658 arbres provenant de 64 populations naturelles réparties à travers 11 pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre ont été analysées et les paramètres de diversité génétique ont été déterminés en utilisant le programme POPGENE. Ainsi, le déterminisme génétique de cinq systèmes enzymatiques codés par 8 locus polymorphes comportant 33 allèles a été élucidé. Les paramètres de diversité intra-population ont révélé des valeurs relativement élevées, avec un nombre moyen d'allèles (A) de 4,13, un pourcentage de polymorphisme (P) de 100 % et un taux d'hétérozygotie attendue (H_e) de 0,34. La valeur importante du flux de gène ($N_m = 1,61$) et la faible différenciation génétique moyenne entre les populations ($F_{st} = 0,13$) indiquent qu'un niveau d'échange de gènes assez significatif se fait entre les populations et qu'une part importante de la diversité génétique de l'espèce est d'origine intra-population. La matrice des distances génétiques montre des valeurs peu élevées, comprises entre 0 et 0,240; ce qui indique que les populations présentent une ressemblance génétique et laisse supposer qu'elles appartiennent à un même groupe génétique. Ce niveau de diversité et cette structuration génétique seraient essentiellement le fait de l'histoire évolutive de l'espèce, sans goulot d'étranglement, de la biologie de la reproduction (indice de synchronisme et taux d'allofécondation élevé) et de l'action de l'Homme qui a développé au cours du temps, les parcs à *P. biglobosa* et favorisé les flux de gène entre eux.

Abstract

Parkia biglobosa is a multipurpose tree species of the parklands of western and central African sudanian savannas. However, this socio-economically important species is threatened and its genetical organisation and mating system are not well known. We studied the genetic diversity of *P. biglobosa*, using enzymatic electrophoresis in order to identify the most diverse populations with important features for the conservation of their genetic resources. Open pollinated seeds collected from 1658 trees of 64 populations in 11 Western and Central African countries were analyzed and the genetic diversity parameters were estimated, using the software programme POPGENE. The genetic control of five enzymatic systems coding for 8 polymorphous locus with 33 alleles was elucidated. As results, high values of intra-population genetic diversity were found for the mean number of alleles per locus (with $A = 4.13$), for the percentage of polymorphism ($P = 100\%$), and for the expected heterozygosity ($H_e = 0.34$). The high value of gene flow ($N_m = 1.61$) and the low genetic differentiation between population ($F_{st} = 0.13$) indicate that there was an important rate of gene exchange between the populations and that the genetic diversity of the species was great within populations. The genetic distances were also low (0 to 0.240), indicating that populations were similar enough to belong to a same genetic group. The current genetic diversity and genetic structure of *P. biglobosa* result from its evolutionary history without bottleneck sequence, the reproductive biology with high flowering synchronism and outcrossing rates, and the *P. biglobosa* parkland systems that human developed through years and as such have facilitated gene flow between populations.

[Chapitre en preparation pour publication avec la collaboration de H.I. Joly, L.J.G. van der Maesen et M. Sacandé]



Chapitre 3

DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE de *Parkia biglobosa*

3.1. Introduction

Parkia biglobosa est une espèce agroforestière largement répandue en Afrique depuis le Sénégal à l'Ouest jusqu'en Ouganda à l'Est. Elle représente l'une des espèces les plus importantes des parcs arborés des savanes soudano-sahéliennes et soudaniennes en raison de ses multiples fonctions. En effet les différentes parties de l'arbre sont utilisées dans l'alimentation humaine et animale, la médecine traditionnelle, la pharmacopée et l'artisanat. C'est également une espèce mellifère qui contribue en plus à la protection et à l'amélioration des sols et remplit des fonctions spirituelles dans de nombreuses sociétés traditionnelles (Bonkougou 1987, Millogo-Rasolondimby & Nacro 1996, Ki 1994, Ouédraogo 1995). L'importance économique de l'espèce justifie dans certaines zones les initiatives de nombreux agriculteurs qui développent et entretiennent des plantations.

En dépit des multiples avantages que procure *Parkia biglobosa* aux communautés locales, elle subit, à l'instar des autres espèces de la savane, de sérieuses menaces liées aux pressions anthropiques et aux aléas climatiques. Ceci se manifeste par le vieillissement de nombreux parcs, caractérisés par une absence de régénération et la dégradation de certains autres (Ouédraogo 1995, Hall et al. 1997). Cette situation préoccupante commande que des mesures visant à préserver l'espèce soient prises et ceci est d'autant plus urgent que *Parkia biglobosa* figure parmi les espèces dont la biologie et l'organisation génétique sont encore inconnues. La présente étude sur la variation génétique de *Parkia biglobosa* répond à cette préoccupation. L'étude vise à obtenir des informations susceptibles de contribuer au développement d'actions de régénération, d'aménagement et d'utilisation durable de l'espèce. En effet les études de diversité génétique sont d'une importance capitale car elles déterminent l'information de base requise pour l'amélioration génétique et la conservation des ressources génétiques d'une espèce.

L'étude de la diversité génétique a été entreprise au moyen de marqueurs génétiques. En effet ces marqueurs constituent aujourd'hui des outils privilégiés de détermination du niveau et de la répartition de la diversité génétique au sein des espèces, de la structure génétique des populations, des paramètres de leur système de reproduction et des caractéristiques taxonomiques des espèces. Il s'agit des marqueurs biochimiques (isozymes, terpènes) et des marqueurs moléculaires (RFLP, microsatellite, RAPD et AFLP). Ces deux catégories de marqueurs génétiques présentent toutefois des caractéristiques différentes. Comparés aux marqueurs moléculaires, les marqueurs biochimiques, en particulier les isozymes dont l'utilisation est assez répandue dans le cadre des recherches sur la conservation des ressources génétiques (Glaubitz & Moran 2000), présentent les inconvénients suivants:

- Une révélation d'un nombre réduit de locus;
- Un niveau de polymorphisme relativement faible;
- Un échantillonnage non aléatoire du génome.

En revanche ce sont des marqueurs co-dominants, de faible coût, faciles à mettre en oeuvre, fiables et reproductibles (Grivet & Noyer 1999). Quant aux marqueurs moléculaires, ils permettent de révéler théoriquement un nombre infini de locus, permettent une bonne résolution entre les individus analysés et leur utilisation peut être automatisée. Par ailleurs, ils requièrent peu de tissus, ce qui est un atout dans le contexte de la conservation des plantes ou toute forme de préservation des ressources est à promouvoir (Rosseto et al. 1995). Leur mise en oeuvre (équipement, développement, etc.) est cependant coûteuse et les études de diversité génétique basées sur ce type de marqueurs restent encore limitées.

Tableau 3.1. Coordonnées géographiques des 64 populations étudiées pour leur variabilité génétique. Les populations sont regroupées par pays. La pluviométrie varie entre 512 mm à Dabo (Sénégal et 2963 mm à 2963 mm à Sikhourou (Guinée). Ces données ont été collectées lors des missions des équipes du CNSF.

Pays	Population – Code	Latitude	Longitude	Pluviométrie (mm)	
Bénin	Tchakalakou - BE52	10°32' N	1°20' E	1339	
	Péperkou - BE53	10°25' N	1°26' E	1339	
	Kotopounga - BE54	10°18' N	1°31' E	1248	
	Natitingou - BE55	10°19' N	1°22' E	1339	
	Manta Dik - BE56	10°21' N	1°06' E	1339	
	Toukountouna - BE57	10°30' N	1°22' E	1339	
Burkina Faso	Pama - BF1	11°14' N	0°42' E	1072	
	Toeghin - BF2	11°57' N	1°29' W	1029	
	Sapone BF3	12°02' N	1°36' W	862	
	Darsalamy BF4	12°21' N	4°39' W	1022	
	Koutoura BF5	10°20' N	4°54' W	862	
	Tiebele BF6	11°06' N	0°50' W	1057	
	Gaoua BF7	10°19' N	3°10' W	1161	
Cameroun	M'bor CA26	9°32' N	13°42' E	1044	
	Gashiga CA27	9°25' N	13°22' E	1017	
	N'Gong CA28	9°00' N	13°02' E	1169	
	Poli CA29	8°29' N	13°15' E	1408	
	Wourouwate CA30	7°35' N	15°30' E	1169	
	Nakong CA31	9°20' N	13°15' E	1014	
	Mbaiboum CA32	7°25' N	15°29' E	1169	
	Cote d'Ivoire	Dolekaha CI33	9°25' N	5°28' W	1384
Tienderi CI34		8°46' N	5°36' W	1155	
Karamogola CI35		8°05' N	6°06' W	1262	
Kafiofi CI36		9°59' N	5°54' W	1384	
Broundougou CI37		10°00' N	5°05' W	1384	
Minignan CI38		10°00' N	7°46' W	1612	
Ouangofitini CI39		9°33' N	4°00' W	1337	
Ghana		Ho-kpandu GH21	6°37' N	0°28' E	1418
		Bawku-East GH22	11°05' N	0°14' E	1072
	Bawku Bolga GH23	10°46' N	1°09' E	1039	
	Krachi GH24	7°47' N	0°03' W	1406	
	Dambai GH25	11°12' N	1°30' W	1337	
Guinée	Konkoure GU40	10°18' N	12°14' W	2035	
	Bokaria GU41	10°00' N	12°40' W	2035	
	Dabola GU42	10°44' N	11°05' W	1963	
	Sikhourou GU43	9°32' N	12°53' W	2963	
	Segueya GU44	9°56' N	11°42' W	2035	
Mali	M'besso MA14	11°40' N	8°13' W	1225	
	Borioni MA15	12°21' N	4°39' W	1225	
	Lofini MA16	12°33' N	7°00' W	1384	
	Diomatene MA17	11°25' N	7°28' W	1384	
	Nafegue MA18	12°46' N	5°36' W	1384	
	Katele MA19	12°42' N	6°05' W	1384	
	Fourou MA20	11°00' N	7°46' W	1225	
Niger	Bouma NR62	12°05' N	3°21' E	870	
	Souley Koara NR63	11°05' N	3°01' E	870	
	Kaka Sakara NR64	12°15' N	2°21' E	870	
Nigeria	Kaduna NA58	9°30' N	7°25' E	1309	
	Ilorin NA59	8°25' N	4°35' E	1258	
	Auchi NA60	10°30' N	9°35' E	1364	
	Maidiguri NA61	8°30' N	8°35' E	980	
Sénégal	Kolda SE45	12°56' N	14°57' W	-	
	SareYoba SE46	12°45' N	15°06' W	712	
	Dabo SE47	12°53' N	14°28' W	512	
	Baghere SE48	-	-	535	
	Simbandy SE49	12°38' N	15°26' W	712	
	Baria SE50	15°28' N	14°27' W	536	
	Dieng SE51	15°30' N	12°23' W	535	
Togo	Timbou TO8	11°02' N	0°07' E	1072	
	Bafilo TO9	7°21' N	1°14' E	1375	
	Magnan TO10	10°20' N	1°19' E	1339	
	Konkoate TO11	10°52' N	0°17' E	1072	
	Nanergou TO12	10°20' N	0°09' E	1339	
	Nassable TO13	10°43' N	0°12' E	1076	

Si les niveaux de diversité génétique détectés par les isozymes sont faibles, la structure génétique des populations qu'ils révèlent est généralement comparable à celle révélée par les marqueurs moléculaires (Dubreuil & Charcosset 1998, Byrne & Moran 1998, Nybom 2004). Ils

constituent avec les RAPD l'outil le mieux approprié pour la détermination de la structure génétique et de la diversité génétique des populations (Hamrick et al. 1991, Chamberlain 2001). En outre les isozymes représentent un outil d'investigation de base utile pour les espèces encore très peu étudiées. Par ailleurs ils ont un caractère universel dans la mesure où les estimations de diversité génétique qu'ils révèlent peuvent faire l'objet de comparaison entre populations et entre espèces. Enfin ils sont appropriés pour l'étude de la diversité génétique de grands échantillons en raison de leur faible coût et de la facilité de mise en oeuvre.

Pour toutes ces raisons sans doute, l'utilisation des techniques d'électrophorèse isoenzymatique appliquées aux plantes a connu une remarquable progression ces dernières années. Plus de 2200 études portant sur les variations d'isozymes des plantes ont été répertoriées par (Hamrick & Godt 1996). Ainsi une multitude de travaux ont été consacrés à l'étude des espèces ligneuses tempérées et dans une certaine mesure aux espèces tropicales des zones humides. En revanche, on constate un déficit notoire de travaux sur les espèces ligneuses des zones arides en général (Nassar et al. 2003). Ce déficit est particulièrement prononcé pour les espèces des paysages arides et semi-arides de la zone soudano-sahélienne d'Afrique où très peu d'espèces forestières ont fait l'objet d'études et se résument essentiellement à: *Faidherbia albida* (Joly et al. 1992, Sina 1992, Zeh-Nlo 1994, Harris et al. 1997); *Acacia senegal* (Chevallier et al. 1994); *Tamarindus indica* (Diallo 2001); *Acacia raddiana* (Shrestha et al. 2002); *Vitellaria paradoxa* (Lovett & Haq 2000, Bouvet et al. 2004, Kelly et al. 2004, Sanou et al. 2005, Cardi et al. 2005). Ces espèces comptent en effet parmi les espèces végétales dont la biologie et l'organisation génétique sont les moins connues. Le peu d'intérêt accordé à cette catégorie d'espèces est d'autant paradoxal qu'il s'agit le plus souvent d'espèces dont la survie est fortement menacée à la fois par les conditions climatiques austères et les fortes pressions anthropiques, et pour lesquelles les études génétiques seraient donc amplement justifiées. Ceci pourrait s'expliquer d'une part par la priorité qui est accordée aux espèces annuelles agricoles plus faciles à manipuler que les arbres qui se caractérisent par leur pérennité, la maturité sexuelle tardive, la longueur des cycles de reproduction, et d'autre part par l'insuffisance de moyens financiers et de ressources humaines qualifiées pour conduire durablement ce type de programmes de recherche dans les pays concernés.

Le présent travail porte sur l'étude du polymorphisme isoenzymatique de populations naturelles de *Parkia biglobosa* au moyen de l'électrophorèse sur gels d'amidon et d'acrylamide. L'objectif visé est de déterminer les paramètres de génétique des populations de l'espèce: la diversité intra et interpopulation, la structure et les distances génétiques. Ainsi, les différentes populations pourront être comparées entre elles et il sera mis en évidence celles possédant des caractéristiques particulières (richesse allélique, taux d'hétérozygotie) et susceptibles d'être échantillonnées dans le cadre de la conservation des ressources génétiques forestières.

3.2. Matériel et Méthode

3.2.1. Matériel végétal

Des graines issues de fécondation libre ont été utilisées pour l'analyse de la diversité génétique. Elles ont été récoltées dans 64 populations naturelles réparties à travers 11 pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre, couvrant ainsi la quasi-totalité de l'aire de distribution de *Parkia biglobosa*. Trois à sept populations ont été échantillonnées dans chacun des pays. Les coordonnées géographiques des populations sont présentées dans le Tableau 3.1.

Les graines récoltées sont ensuite prétraitées à l'acide sulfurique concentré sous agitation pendant 20 min, puis rincées abondamment à l'eau avant d'être semées sur une couche de coton hydrophile imbibé d'eau dans une boîte transparente hermétiquement fermée. Puis elles sont mises à germer dans une enceinte tropicalisée sous photopériode de 16 h à une température de 30°C ou en conditions ambiantes au laboratoire de graines du CNSF, à une température variant entre 25° et

30°C et au moins 10 heures de lumière. Au bout de 5 à 7 jours, les cotylédons sont verts, étalés et turgescents et les premières feuilles commencent à se développer, correspondant au meilleur stade physiologique pour l'extraction de l'activité enzymatique. Une graine par arbre-mère est analysée et au total 1658 arbres ont été effectivement analysés.

Les essais se sont déroulés pour l'essentiel au Laboratoire du Département de Phytotaxonomie de l'Université de Wageningen. Une partie des essais se sont poursuivis au Laboratoire du CNSF.

3.2.2. Méthode

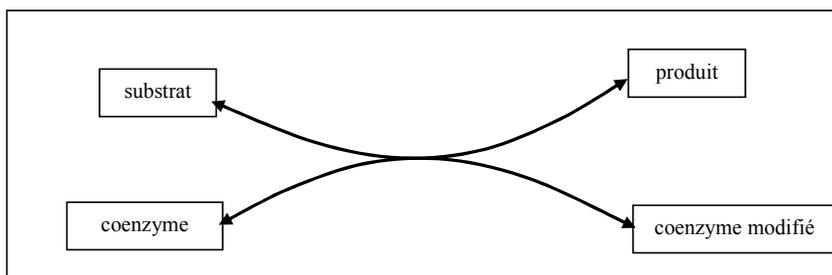
3.2.2.1. Échantillonnage des populations et des arbres analysés

En l'absence de données sur la biologie de l'espèce, susceptibles d'orienter l'échantillonnage, le souci a été d'avoir un échantillon le plus grand possible couvrant toute l'aire de répartition de l'espèce. Le principal critère qui a guidé l'échantillonnage des populations a été la diversité des conditions climatiques dans et entre les différents pays considérés. Ainsi, dans la mesure du possible, la sélection a porté sur des populations suffisamment représentatives de toute l'aire de distribution de *Parkia biglobosa* du point de vue de la diversité des milieux écologiques. Les populations échantillonnées ont des densités estimées entre 10 et 25 arbres à l'hectare. Puis des récoltes de descendance séparées ont été faites sur 25 à 30 arbres adultes par population. La récolte des fruits a été faite sur l'ensemble du houppier. Une distance de 100 m à 150 m a été respectée entre les semenciers afin d'éviter de récolter sur des arbres apparentés.

3.2.2.2. Electrophorèse enzymatique

Principe

L'électrophorèse consiste à séparer des protéines (dans des conditions non dénaturantes) dans un champ électrique à un pH contrôlé. Dans ce champ, les protéines se meuvent comme tout corps chargé électriquement; la vitesse de migration dépend de la charge nette de la protéine et de sa facilité à se mouvoir dans l'environnement fixé (mailles formées par le gel). Les protéines de charge nette négative migrent vers l'anode et celles de charge nette positive vers la cathode. De même, les protéines les plus chargées iront plus loin en une même durée que les protéines les moins chargées, à masse et forme identiques. On mesure alors la mobilité électrophorétique, caractéristique de la protéine, par le déplacement de la molécule pendant un laps de temps donné dans un champ uniforme. Les protéines sont ainsi séparées selon leur charge électrique, leur taille et leur masse moléculaire. Pour visualiser les enzymes à leur emplacement sur les supports (gel d'amidon, de polyacrilamide, ou papier filtre), il faut les colorer spécifiquement. Quand les enzymes sont mis en présence de leur substrat et des divers corps chimiques nécessaires à leur activité (coenzyme, ions, etc.), ils transforment le substrat à l'emplacement même où ils se trouvent selon la réaction générale (Pasteur et al. 1987):



Si le produit ou le coenzyme modifié n'est pas coloré, leur formation peut être couplée à une seconde réaction chimique chromogène.

Extraction des enzymes

Les cotylédons âgés de 5 à 7 jours sont prélevés, puis immédiatement broyés à une température de +4°C en présence de sable fin contenant 400 à 600 µl de tampon d'extraction pour plus de détails) selon la taille des cotylédons et le support de migration. Les broyats sont centrifugés à 1300 tr/min dans des tubes Eppendorf pendant 25 min à +4°C. Le surnageant contenant les protéines solubles est utilisé le même jour, une perte d'activité de certains enzymes est observée dans les deux ou trois jours qui suivent.

Migration des extraits

L'acrylamide et l'amidon sont utilisés comme support de migration. Pour l'acrylamide on utilise un système de tampon continu le TBE pH 8,3 dans une cuve Biorad à migration verticale, permettant de réaliser quatre gels par cuve. Un gel dit de séparation de forte concentration en acrylamide (10%) est d'abord coulé, puis surmonté d'un gel de concentration à 3% devant contenir les puits où sont effectués les dépôts. Une couche superficielle de butanol saturé en eau est déposée en surface pour favoriser la polymérisation des gels à l'abri de l'air.

Quant à l'amidon, un système de tampon discontinu (gel et cuve) à base d'histidine pH 6,5 à migration horizontale est utilisé. Le dépôt des extraits est réalisé à 4°C. Du papier whatman n°2 (2 mm x 14 mm) imbibé d'extraits (10 µl) est introduit dans chaque puit des gels d'amidon. Deux extraits témoins et constants sont déposés dans 2 des 20 puits d'un même gel d'acrylamide et des 24 puits de gel d'amidon. Une goutte de 2µl de bleu de bromophénol peut être ajoutée dans un puits pour visualiser le front de migration. La durée optimale de migration permettant une bonne résolution des bandes varie pour l'acrylamide de 4 à 5 h selon les systèmes enzymatiques, et est de 6 h pour l'amidon. La migration se déroule sous les conditions suivantes (maximales):

- Acrylamide: tension: 18 W
 puissance: 300 V
 intensité: 60 mA/cuve
- Amidon: tension: 16 W
 puissance: 320 V
 intensité: 50 mA/cuve

Révélation des enzymes

A la fin de la migration, les gels sont trempés dans différentes solutions de révélations pendant des durées variables selon le type d'enzyme à révéler. On obtient des zymogrammes présentant des bandes à différents niveaux correspondant à la position d'allèles à des locus précis. L'interprétation de ces bandes permettra ainsi de déterminer le génotype des individus analysés. La composition du tampon d'extraction, du système de migration et des solutions de révélation est adaptée de Wendel & Weeden (1990) et de Pasteur et al. (1987).

3.2.2.3. Paramètres de génétique des populations

Divers paramètres permettant de quantifier la variabilité génétique intra et inter-population ont été calculés à l'aide du programme POPGENE version 1.31 (Yeh & Boyle 1999).

1) Diversité intra-population

Cinq (5) paramètres sont utilisés pour décrire la diversité intra-population. Ils sont estimés pour chaque locus et la moyenne est prise sur tous les locus.

- a) Nombre moyen d'allèles par locus A

Ce paramètre traduit la richesse allélique d'une population.

$$A = \frac{1}{\ell} \sum_{a=1}^{\ell} a$$

où a représente le nombre d'allèles à un locus
et ℓ le nombre de locus étudiés

- b) Taux de polymorphisme P

C'est le pourcentage des locus polymorphes dans l'échantillon étudié. La probabilité d'observer au moins deux allèles à un même locus dépend des fréquences respectives des allèles et aussi de la taille de l'échantillon. Dans la présente étude, un locus est considéré polymorphe dans le cas où l'allèle le plus fréquent a une fréquence inférieure à 0,95.

- c) Taux d'hétérozygotie observé H_{ok}

C'est la proportion d'individus hétérozygotes au locus k .

$$H_{ok} = \sum_{i,j=1}^{a_k} P_{ij} \quad (i \neq j)$$

P_{ij} est l'estimation de la fréquence du génotype ij au locus k et a_k le nombre d'allèles au locus k . Si on considère ℓ locus le taux d'hétérozygotie observé H_o est la moyenne de H_{ok} :

$$H_o = \frac{1}{\ell} \sum_{k=1}^{\ell} H_{ok}$$

- d) Taux d'hétérozygotie attendue H_{ek}

Dans une population en équilibre panmictique (association au hasard des allèles), chaque génotype a pour fréquence le produit des fréquences des allèles (p_i) qui le constituent. Si on considère les hétérozygotes, on peut calculer le taux d'hétérozygotie attendue:

$$H_{ek} = 1 - \sum_{i=1}^{a_k} p_{ik}^2$$

- e) Ecart à la panmixie F

L'écart entre la proportion d'individus trouvés à l'état hétérozygote (H_o) et le taux d'hétérozygotie attendue (H_e) est mesuré par le paramètre F appelé indice de fixation:

$$F = 1 - H_o/H_e$$

A un locus donné, dans une population d'individus diploïde où l'association des deux gamètes pour former les zygotes se fait au hasard par rapport aux génotypes de ces gamètes, la structure génotypique de la population est appelée structure de Hardy-Weinberg. L'indice de fixation est une mesure de l'écart à la structure de Hardy-Weinberg. Il varie de -1 à +1 et permet de connaître le déficit en hétérozygotes par population, par locus et pour l'ensemble des locus. F est positif quand la population présente un déficit en hétérozygotes par rapport à l'équilibre panmictique et négatif dans le cas contraire. Un certain nombre de facteurs contribuent à cet écart: consanguinité, homogamie, dérive, sélection, différenciation génétique locale, etc.

2) Diversité inter-population

Trois paramètres sont utilisés pour décrire la diversité inter-population.

- a) Distances génétiques

Le degré de ressemblance ou de dissemblance génétique des populations est estimé par des distances génétiques. Elles sont une estimation des temps de séparation de différentes populations (Slatkin 1975). Nous avons retenu dans cette étude la distance de Nei (1978) parce qu'elle est fréquemment utilisée en génétique des populations et la distance absolue (ou distance de Prevosti) car c'est la seule distance génétique à posséder les propriétés mathématiques d'une distance. Les distances sont calculées pour chaque couple de sous-populations, la matrice de distances ainsi obtenues peut être représentée sous forme de dendrogramme. Les sous-populations sont agrégées de telle sorte que les plus proches génétiquement soient aussi les plus proches sur le dendrogramme.

* **Distance de Nei.** On considère 2 populations X et Y dans lesquelles on analyse ℓ locus (les mêmes pour les deux populations), l'identité génétique moyenne G_X des ℓ locus dans la population X est:

$$G_X = \frac{1}{\ell} \sum_{k=1}^{\ell} g_{Xk} \quad \text{avec} \quad g_{Xk} = \sum_{i=1}^{r_k} P_{Xki}^2 \quad \text{de même} \quad G_Y$$

P_{Xki} représente la fréquence de l'allèle i au locus k dans la population X.

L'identité génétique entre les deux populations X et Y au locus k est définie par:

$$g_{XYk} = \sum_{i=1}^{r_k} P_{Xki} P_{Yki}$$

Soit G_{XY} la moyenne arithmétique des ℓ locus, la distance de Nei ou indice de dissemblance est définie par:

$$D_S = - \ln \frac{G_{XY}}{\sqrt{G_X G_Y}}$$

variant de 0 (= identité des populations comparées) à l'infini lorsque les populations n'ont aucun allèle en commun.

- b) Statistiques F de Wright

Pour mesurer l'organisation de la diversité génétique dans une population divisée en sous-populations, Wright (1965) a défini trois paramètres F_{IT} , F_{IS} et F_{ST} appelés statistiques F et désignant respectivement les indices de fixation d'un individu de la population, d'un individu d'une sous-population et d'une sous-population. F_{IS} et F_{IT} mesurent la corrélation entre les gamètes d'un même individu tiré au hasard respectivement dans une sous-population et dans la population totale. F_{IS} permet de mesurer le déficit local moyen d'hétérozygotes par rapport à la structure génotypique de Hardy-Weinberg. F_{IT} permet de mesurer le déficit global d'hétérozygotes dans l'ensemble de la population. F_{ST} représente la corrélation entre deux gamètes tirés au hasard dans deux sous-populations différentes et renseigne sur le niveau de différenciation des sous-populations. Il permet de mesurer le déficit d'hétérozygotes qui est dû aux différences de fréquences alléliques entre sous-populations, déficit connu sous le nom d'«effet Wahlund» (Wahlund 1928). $0 \leq F_{ST} \leq 1$. Ces trois paramètres sont reliés par la formule suivante:

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS}) (1 - F_{ST})$$

- c) Flux de gène

La différenciation génétique entre sous populations est favorisée par la dérive et limitée par les flux géniques entre sous populations. Le taux de migration m est relié à la différenciation génétique F_{ST} par la relation:

$$Nm = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$$

où N représente le nombre effectif d'individus d'une sous-population.

3.3. Résultats

3.3.1. Déterminisme génétique

Treize systèmes enzymatiques ont été testés sur gels d'acrylamide et/ou d'amidon. Cinq d'entre eux présentant des zymogrammes lisibles et interprétables ont été retenus.

- Alamine aminopeptidique: **AAP (EC 3.6.11.1)**.

Révéle sur gel d'acrylamide, l'AAP est un monomère dont le zymogramme montre 3 zones différentes correspondant à 3 locus. Seul l'Aap-2 avec 4 allèles et l'Aap-3 avec 5 allèles ont été considérés.

- Acide phosphatase: **ACP (EC 3.1.3.2)**

C'est un acide monomérique qui exhibe 5 locus dont 2 ont été retenus pour l'analyse. Acp-3 avec 4 niveaux d'allèles et l'Acp-4 avec 6 allèles.

- Shikimate déshydrogénase: **SKD (EC 1.1.1.25)**

Seul 1 locus est noté pour ce système monomérique révéle sur l'amidon. Six niveaux d'allèles ont été enregistrés pour le SKD.

- 6-Phosphogluconate déshydrogénase: **6PGD (EC 1.1.1.44)**

Système dimérique révéle sur gel d'amidon, le zymogramme présente 2 zones de migrations et le locus le moins rapide, 6Pgd-2 avec 3 allèles a été considéré pour l'analyse.

- Peroxidase: **PRX (EC 1.11.1.7)**

C'est un système monomérique présentant une bonne résolution sur l'amidon. Le zymogramme exhibe 2 locus interprétables, le Prx-1 présentant 2 allèles et le Prx-2, 3 allèles.

Au total, ces cinq systèmes enzymatiques codés par 8 locus polymorphes comportant 33 allèles ont été ainsi pris en compte pour l'analyse des populations. Les génotypes des 1658 descendants ont été relevés aux 8 locus.

3.3.2. Organisation de la diversité génétique

3.3.2.1. Diversité intra-population

Les paramètres de diversité intrapopulation ont été estimés pour les 64 populations (Tableau 3.2)

Les fréquences alléliques

D'une manière générale, la distribution des allèles dont le nombre varie de 2 pour le Prx-1, à 6 pour l'Acp-4, et le Skd est assez identique dans la plupart des populations, les allèles les plus fréquents étant presque toujours les mêmes. C'est notamment le cas de l'allèle 2 qui apparaît souvent, sinon toujours, le plus fréquent dans les différents locus de toutes les populations étudiées. L'Annexe 2 présente les fréquences alléliques d'une dizaine de populations exhibant une certaine richesse allélique. Les fréquences alléliques calculées pour chaque locus et chaque population varient entre 0.017 pour plusieurs allèles dans quelques populations à 1 pour l'allèle 2 du Prx1 et Pr2 au niveau de plusieurs populations.

Au niveau de l'Aap2 qui compte 4 allèles, la fréquence de l'allèle 2 est supérieure à 0,900 dans certaines populations réparties dans tous les pays à l'exception du Nigéria. L'allèle 4 de ce locus dont la fréquence au niveau de la population totale n'est que de 0,006 est présent dans une douzaine de populations de 8 pays. L'absence de l'allèle 1 de ce locus dans six populations sur sept que compte le Burkina est assez remarquable.

Quant à l'Aap3 qui exhibe 5 allèles, l'allèle 5 n'est représenté que dans les populations de Magnan au Togo et Toukountouna au Bénin, deux zones géographiquement très proches l'une de l'autre. L'allèle 4 de l'Acp3 qui en compte 4 est le moins fréquent (0,005 au niveau de la population

totale); il n'est observable que dans 9 populations au Togo, Ghana, Cameroun, Mali, Guinée, Sénégal et au Bénin. L'allèle 2 est le plus fréquent dans presque toutes les populations (0,912 à Tiébéle au Burkina Faso), à l'exception de quelques populations du Togo, Bénin, Ghana, Nigéria, Sénégal et Guinée.

La distribution des allèles au locus Acp4 montre une fois de plus une large représentation de l'allèle 2 dont la fréquence varie de 0,364 à Bafilo (Togo) à 0,948 à Sareyoba (Sénégal), une faible fréquence de l'allèle 5 (0,003 au niveau de la population totale) repartit dans six populations du Togo, Mali, Sénégal, Cameroun et Guinée, et la présence de l'allèle 6 dans l'unique population de Baria au Sénégal. On peut noter que pour le Pgd, six des sept populations du Cameroun ne comportent que l'allèle 2, par ailleurs fortement représenté dans la quasi-totalité des populations, à l'exception de 3 populations (Kotopounga, Natitingou et Konkoate) appartenant à deux pays voisins, le Togo et le Bénin.

Le schéma de distribution des allèles aux locus Prx1 et Prx2 présente une similarité. Dans 50 populations, la fréquence de l'allèle 2 est de 1 au niveau du Prx1 contre 33 populations pour le Prx2. L'allèle 5 du Skd qui en compte 6 n'est présent que dans 5 populations au Burkina Faso, Togo, Sénégal et Guinée, à des fréquences comprises entre 0,023 et 0,143. L'allèle 6 au locus Skd n'est présent que dans la population de Baria au Sénégal.

L'examen de ces données permet de relever (i) qu'aucun lien apparent ne peut être établi entre la distribution géographique des allèles et les conditions écologiques des populations; (ii) que certaines populations du Togo et dans une moindre mesure du Bénin semblent comporter différents allèles aux différents locus; (iii) que l'allèle 6 aux locus Acp4 et Skd présent uniquement à Baria au Sénégal apparaît spécifique à cette population.

Le nombre moyen d'allèles par locus

Le nombre moyen d'allèles par locus varie de 1,75 pour la population de Ngong (Cameroun) à 3,13 pour les populations de Magnan au Togo et Baria au Sénégal (Tableau 3.2). Il est de 4,13 pour la population totale, ce qui est relativement important. Les variations observées à l'intérieur des pays sont peu importantes, à l'exception notable du Sénégal où le nombre moyen de locus se situe entre 1,88 et 3,13. La comparaison des données des populations permet de distinguer globalement deux types de pays selon le nombre moyen d'allèles par locus (voir Figure 3.1):

Groupe 1: Cameroun, Cote d'Ivoire, Guinée, Niger et Sénégal

Ce groupe est caractérisé à quelques exceptions près par des niveaux relativement moins élevés du nombre d'allèles par locus. En effet pour la plupart des populations, le nombre moyen d'allèles par locus se situe en dessous de 2,5. Les valeurs les plus faibles se rencontrent dans les populations du Cameroun notamment à Ngong avec $n_a = 1,75$.

Groupe 2: Bénin, Burkina Faso, Ghana, Mali, Nigeria et Togo

Le nombre moyen d'allèles par locus pour les populations de ce groupe excède souvent 2,5. C'est notamment le cas du Mali où toutes les populations présentent des valeurs supérieures ou égales à 2,5.

Le pourcentage de polymorphisme

Le pourcentage de polymorphisme est relativement important et varie de 62,5% pour toutes les 6 populations du Cameroun, pour Bokaria en Guinée et Kolda au Sénégal, à 100% pour 6 populations du Burkina Faso, du Mali, du Ghana et de la Cote d'Ivoire. La plupart des populations ont un pourcentage de polymorphisme soit de 75% soit de 87,5%. Il apparaît nettement sur la Figure 3.2 présentant la distribution géographique du polymorphisme que les populations du Cameroun, de Guinée et du Sénégal sont celles qui affichent les pourcentages de polymorphisme les plus bas (valeurs généralement comprises entre 62,5% et 75%).

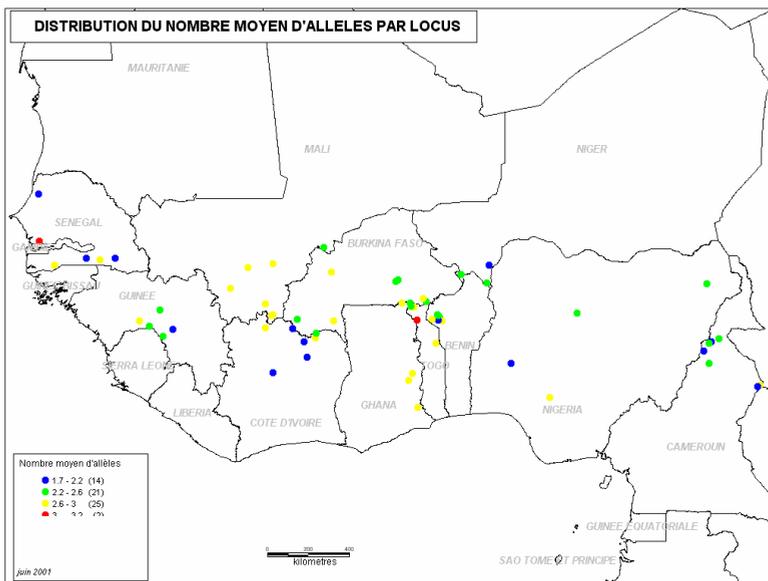


Figure 3.1. Répartition du nombre d'allèles dans les différentes populations. Le nombre d'allèles varie entre 1,7 et 2,2 pour plusieurs populations du Cameroun, de Côte d'Ivoire, Guinée, Niger et Sénégal. La plupart des autres populations (46) ont un nombre d'allèles compris entre 2,2 et 3.

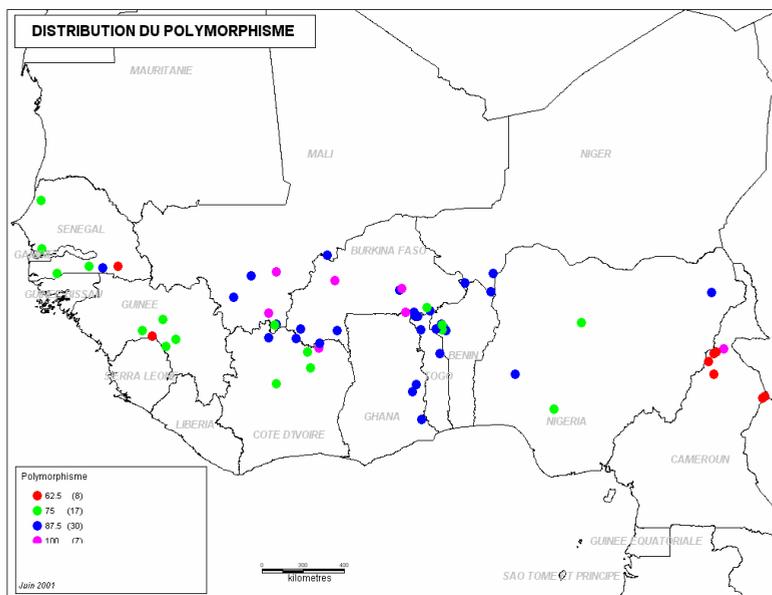


Figure 3.2. Répartition du polymorphisme dans les populations étudiées. La plupart des populations (30), notamment celles du Togo, Ghana, Bénin et Burkina Faso ont un polymorphisme élevé de 87,5%, les populations du Cameroun en particulier présentant le plus faible polymorphisme de 62,5%.

L'hétérozygotie

Les taux d'hétérozygotie observée H_o varient de 0,17 pour la population de Sare Yoba du Sénégal à 0,45 pour la population de Ilorin au Nigeria (Tableau 3.2). Le taux moyen d'hétérozygotie observée est de 0,26. Quant aux taux d'hétérozygotie attendue H_e , ils sont compris entre 0,20 pour la population de Minignan en Cote d'Ivoire et 0,39 pour la population de Tchakalakou du Bénin. Le taux moyen d'hétérozygotie est de 0,34. L'examen des résultats suggère le classement des populations en trois catégories selon leur taux d'hétérozygotie:

Catégorie 1: on enregistre les populations présentant les plus forts taux d'hétérozygotie, compris globalement entre 0,30 et 0,39. Il s'agit des populations du Togo (H_e : 0,34 à 0,37), du Ghana (H_e : 0,31 à 0,38) et du Bénin (H_e : 0,27 à 0,39), trois pays géographiquement proches l'un de l'autre.

Catégorie 2: on retrouve les populations dont les taux d'hétérozygotie sont intermédiaires et se situent entre 0,27 et 0,30. Les populations du Burkina, du Mali et du Nigeria sont concernées.

Catégorie 3: les populations de cette catégorie présentent des taux d'hétérozygotie attendue relativement moins élevés, compris entre 0,20 et 0,30. Ce sont les populations du Cameroun, de Guinée, de Cote d'Ivoire et du Niger.

Les populations du Sénégal dont les taux varient entre 0,26 et 0,32 occupent une place intermédiaire entre les catégories 2 et 3. La Figure 3.3 présentant la distribution géographique de l'hétérozygotie montre un certain regroupement des populations exhibant les plus forts taux d'hétérozygotie au niveau de quelques pays. L'examen de cette figure indique en effet que 28 populations (soit plus de 45% de la population totale dont le taux d'hétérozygotie est compris entre 0,30 et 0,35) sont concentrées au Bénin, Burkina Faso, Ghana, Mali et Togo. Des 8 populations dont le taux d'hétérozygotie excède 0,35, sept sont originaires du Bénin, Ghana et Togo.

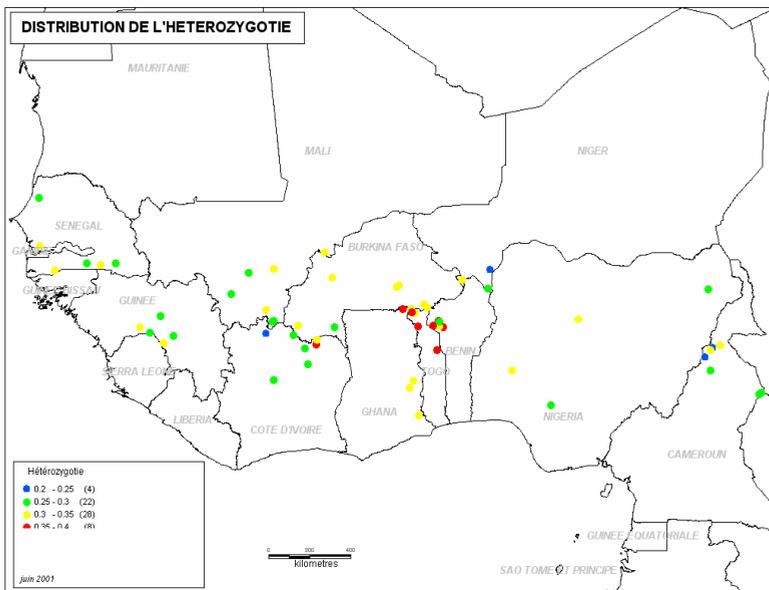


Figure 3.3. Répartition de l'hétérozygotie à travers l'aire de distribution de *Parkia biglobosa*. Les plus fortes hétérozygoties sont concentrées au niveau des populations du Togo et du Bénin. La majorité des populations (28) ont un taux d'hétérozygotie compris entre 0,3 et 0,35 et sont réparties principalement au Ghana, Togo, Bénin et Burkina Faso.

L'écart à la panmixie (F)

L'écart à la panmixie indice de fixation est la mesure de l'écart entre la proportion d'individus trouvés à l'état hétérozygote (H_o) et le taux d'hétérozygotie attendue (H_e). La quasi-totalité des 58 populations sur les 64 étudiées présentent des indices de fixation positifs plus ou moins élevés, compris entre 0,01 (Lofini au Mali) et 0,42 (Timbou au Togo), traduisant ainsi un déficit en hétérozygotes dont les locus Aap-2, Prx-2 et Skd sont en partie responsables (Tableau 3.2). En effet plus des deux tiers des populations analysées présentent des indices de fixation souvent supérieurs à 0,50 auxdits locus. A l'échelle de la population totale, ces locus affichent un excès d'homozygotes assez important avec $F = 0,451$ pour Skd, $F = 0,430$ pour Aap-2 et $F = 0,429$ pour Prx-2.

Seulement 6 populations réparties au Burkina Faso (Darsalamy et Koutoura), au Cameroun (Gashiga), en Côte d'Ivoire (Karamogolo), au Mali (Fourou) et au Sénégal (Simbandy) présentent un léger excès en hétérozygotes (avec des valeurs de F variant entre -0,25 et -0,01). Cet excès est dû principalement au locus Acp-4 pour lequel l'indice de fixation au niveau de la population totale est de -0,107. L'excès d'homozygotie ou d'hétérozygotie par rapport taux d'homozygotie ou d'hétérozygotie attendue sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg, a été testé pour chaque locus et pour chaque population. Ainsi, il apparaît que certaines populations présentent des excès d'homozygotie significatifs par rapport aux proportions de Hardy-Weinberg, d'autres populations ont des excès d'hétérozygotes significativement différents des proportions de Hardy-Weinberg et quelque unes sont en équilibre panmictique. L'indice de fixation moyen pour l'espèce est de 0,24 indiquant un défaut d'hétérozygotes relativement modéré.

Tableau 3.2. Paramètres de diversité intra-population étudiés dans 64 populations du Bénin (BEN), Burkina Faso (BF), Cameroun (CAM), Côte d'Ivoire (CI), Ghana (GH), Guinée (GU), Mali (MAL), Niger (NR), Nigeria (NR), Sénégal et Togo (TOG). Sont représentés, les fréquences alléliques (na); le nombre moyen d'allèles par locus (ne); le pourcentage de polymorphisme (P); l'hétérozygotie observée (Ho) et attendue (He) et l'écart à la panmixie (F), pour chacune des populations. Les valeurs en gras sont les minima, médians et maxima de chaque paramètre.

Populations	A	Ae	P (%)	Ho	He	F
Tchakalakou-Benin	2,50	1,71	87,5	0,29	0,39	0,24
Péperkou-Benin	2,50	1,57	87,5	0,26	0,33	0,21
Kotopounga-BEN	2,63	1,66	87,5	0,34	0,36	0,06
Natitingou-BEN	2,13	1,65	75	0,28	0,34	0,17
Manta Dik.-BEN	2,63	1,67	87,5	0,25	0,36	0,31
Toukountoua-BEN	2,38	1,51	75	0,25	0,26	0,05
Pama-BF	2,63	1,66	75	0,26	0,34	0,22
Toeghin-BF	2,50	1,68	87,5	0,30	0,34	0,10
Saponé-BF	2,50	1,42	100	0,21	0,30	0,18
Darsalamy-BF	2,75	1,52	100	0,33	0,32	-0,03
Koutourou	2,50	1,67	87,5	0,34	0,33	-0,02
Tiébélé-BF	2,38	1,56	87,5	0,24	0,32	0,28
Gaoua-BF	2,63	1,53	87,5	0,22	0,27	0,17
Mbor-CAM	2,50	1,56	100	0,20	0,32	0,38
Gashiga-CAM	1,88	1,45	62,5	0,28	0,23	-0,25
Ngong-CAM	1,75	1,39	62,5	0,22	0,23	0,03
Poli-CAM	2,50	1,48	62,5	0,20	0,26	0,25
Wourouwate-CAM	2,63	1,61	62,5	0,24	0,29	0,14
Nakong-CAM	2,38	1,61	62,5	0,19	0,30	0,37
Mbaiboum-CAM	2,13	1,41	62,5	0,22	0,25	0,11
Dolekaha-CI	2,13	1,46	75	0,26	0,27	0,05
Tiendéri-CI	2,13	1,44	75	0,25	0,26	0,05
Karamogolo-CI	2,13	1,49	75	0,29	0,28	-0,06
Kafiofi-CI	2,50	1,60	87,5	0,22	0,32	0,33
Broundougou-CI	2,13	1,45	87,5	0,23	0,25	0,09
Minignan-CI	2,63	1,28	87,5	0,20	0,20	0,02
Ouangofitini-CI	2,63	1,64	100	0,26	0,35	0,26
Ho-kpandu-GH	2,63	1,48	87,5	0,25	0,30	0,16

Bawku-East-GH	2,88	1,75	100	0,33	0,38	0,13
Bawku-Bolga-GH	2,38	1,65	100	0,32	0,33	0,03
Krachi-GH	2,75	1,51	87,5	0,20	0,31	0,34
Dambaï-GH	2,75	1,70	87,5	0,32	0,34	0,05
Konkouré-GU	2,88	1,62	75	0,29	0,32	0,10
Bakaria-GU	2,38	1,57	62,5	0,22	0,26	0,17
Dabola1-GU	2,50	1,52	75	0,25	0,28	0,09
Sikhourou-GU	2,38	1,62	75	0,29	0,30	0,04
Segueya-GU	2,00	1,53	75	0,15	0,28	0,46
Nbeso-MAL	2,62	1,51	87,5	0,26	0,27	0,02
Borioni-MAL	2,50	1,56	87,5	0,27	0,31	0,13
Lofini-MAL	2,63	1,48	87,5	0,27	0,27	0,01
Diomaténé-MAL	2,88	1,48	87,5	0,25	0,27	0,08
Nafegué-MAL	2,63	1,49	75	0,24	0,28	0,13
Katéélé-MAL	2,63	1,60	100	0,29	0,31	0,06
Fourou-MAL	2,63	1,63	100	0,35	0,33	-0,05
Bouma-NR	2,13	1,40	87,5	0,25	0,24	0,04
Souley Koara-NR	2,25	1,49	87,5	0,24	0,26	0,07
Kaka Sakara-NR	2,38	1,56	87,5	0,29	0,30	0,02
Kaduna-NA	2,38	1,57	75	0,24	0,31	0,23
Ilorin-NA	2,13	1,61	87,5	0,45	0,34	0,35
Auchi-NA	2,63	1,51	75	0,25	0,29	0,12
Maidiguri-NA	2,50	1,39	87,5	0,28	0,27	0,06
Kolda-SEN	2,00	1,48	62,5	0,17	0,26	0,34
Saré Yoba-SEN	1,88	1,58	75	0,19	0,28	0,34
Dabo-SEN	2,75	1,60	87,5	0,25	0,32	0,20
Baghere-SEN	2,63	1,63	75	0,27	0,31	0,14
Simbandy-SEN	2,63	1,75	75	0,30	0,30	-0,01
Baria-SEN	3,13	1,62	75	0,27	0,31	0,15
Dieng-SEN	2,13	1,54	75	0,26	0,29	0,11
Timbou-TOG	2,50	1,66	87,5	0,20	0,34	0,42
Bafilo-TOG	2,75	1,86	87,5	0,27	0,37	0,25
Magnan-TOG	3,13	1,81	87,5	0,33	0,36	0,07
Konkouare-TOG	2,62	1,69	87,5	0,31	0,34	0,08
Nanergou-TOG	2,25	1,68	87,5	0,32	0,36	0,10
Nassablé-TOG	2,63	1,65	87,5	0,34	0,34	0,02
Population totale	4,13	1,66	100	0,26	0,34	0,24

3.3.2.2. Diversité inter-population

Les indices de fixation de Wright (F statistiques)

Les indices de fixation de Wright ont été calculés pour tous les locus (Tableau 3.3). Les valeurs de Fis varient de -0.01 pour le Pgd à 0.40 pour l'Aap-2 et le Skd et celles du Fit de -0.11 au locus Acp-4 à 0.46 au locus Prx-2. Ainsi en dehors du locus Acp-4 qui présente un léger excès d'hétérozygotes (Fis = -0,19; Fit = -0,11) et du Pgd qui est en équilibre panmictique (Fis = -0,01), les autres locus présentent un déficit en hétérozygotes, particulièrement important au locus Prx-2 (Fis = 0,40; Fit = 0,46), Aap-2 (Fis = 0,40; Fit = 0,44) et Skd (Fis = 0,32; Fit = 0,45). On peut noter qu'en général, le défaut d'hétérozygotes reste modéré. La valeur moyenne de Fis (0,13) indique un défaut d'hétérozygotes moins important au niveau des populations prises isolément que dans la population totale (Fit = 0,24), probablement dû à l'effet Wahlund. Quant à la différenciation génétique Fst, elle affiche de faibles valeurs aux locus Aap-2 (0,08), Acp-4 (0,06) et Prx-1 (0,03). En revanche, Fst est relativement élevé pour Pgd (0,21) et Skd (0,19). La différenciation moyenne entre les populations est de 0,13, ce qui peut être considéré comme une valeur globalement faible, indiquant qu'une part relativement importante de la diversité génétique de *Parkia biglobosa* est d'origine intra-population.

Les distances génétiques

La matrice des distances génétiques indique que les distances varient de 0 entre Sikhoura et Segueya, deux populations guinéennes, à 0,240 entre Poli (Cameroun) et Krachi (Ghana). Ces

valeurs relativement peu élevées indiquent que les populations présentent une ressemblance génétique et appartiennent à un même groupe génétique. En observant le dendrogramme construit et présenté à l'Annexe 3, on peut remarquer qu'en général les regroupements des populations se font indépendamment des proximités géographiques. Ainsi en est-il par exemple du regroupement des populations de Poli (Cameroun) en Afrique centrale et Kafiofi (Cote d'Ivoire) et Toukountouna (Bénin), deux pays non voisins d'Afrique de l'ouest. Certains regroupements sont quelquefois en relation avec la position géographique des populations, comme par exemple celui comprenant Koutoura (Burkina Faso), Tchakalakou et Natitingou au Bénin, et Nanergou, Timbou et Konkoate au Togo.

Tableau 3.3. F-statistiques calculés pour tous les locus. F_{IS} mesure le déficit local moyen d'hétérozygotes par rapport à la structure génotypique de Hardy-Weinberg au niveau de chaque population. F_{IT} mesure le déficit global d'hétérozygotes dans l'ensemble de la population. F_{ST} représente la corrélation entre deux gamètes tirés au hasard dans deux sous-populations différentes et renseigne sur le niveau de différenciation des sous-populations. N_m est la mesure du flux de gène entre populations.

Locus	Fis	Fit	Fst	Nm
Aap-2	0,40	0,44	0,08	2,89
Aap-3	0,16	0,25	0,12	1,90
Acp-3	0,11	0,23	0,14	1,50
Acp-4	-0,19	-0,11	0,06	3,80
Pgd	-0,01	0,20	0,21	0,96
Prx-1	0,31	0,33	0,03	7,15
Prx-2	0,40	0,46	0,10	2,14
Skd	0,32	0,45	0,19	1,07
Moyenne	0,13	0,24	0,13	1,61

Les flux de gènes

La valeur du flux de gène pour l'espèce, estimée à 1,61, représente une valeur relativement importante, traduisant un niveau d'échange de gènes assez significatif entre les populations. Il est particulièrement élevé au locus Prx-1 (7,15) et au locus Acp-4 (3,8). Au locus Pgd, le flux de gène présente une valeur inférieure à 1 (0,96).

3.4. Discussion

Parkia biglobosa est une espèce de grande importance socio-économique dont les graines sont d'une grande consommation et font l'objet d'un commerce régional par les communautés locales dans son aire de distribution en Afrique de l'Ouest (Ki 1994, Hall et al. 1997). Cependant des pressions multiformes menacent la survie des parcs à nééré dans de nombreuses zones. Bien que n'ayant pas encore été évalué selon les lignes directrices des critères de l'IUCN pour la Liste Rouge (IUCN 2004), des mesures visant à préserver l'espèce pour une utilisation durable s'avèrent une nécessité. En vue de développer une stratégie appropriée de conservation (in et ex-situ) à long terme de *Parkia biglobosa*, il est indispensable de disposer de données sur la génétique et la biologie de l'espèce. La présente étude sur la variation génétique des populations d'Afrique de l'ouest et du Centre, qui est l'une des premières sur les espèces soudano-sahéliennes, a mis en évidence une forte diversité génétique de l'espèce, entretenue par les activités anthropiques. Par ailleurs, la différenciation génétique entre populations s'est révélée faible et conforme à la biologie de la reproduction (voir Chapitre 2) et à la distribution géographique de l'espèce. Il est à noter que l'étendue de l'aire de répartition, le système de reproduction, le mode de dispersion des semences et la densité des populations peuvent constituer des facteurs déterminants du niveau de diversité génétique de *Parkia biglobosa*, comme nous en discutons en détail ci-dessous.

Une forte diversité génétique entretenue par l'Homme

Notre étude a révélé une richesse allélique et un niveau de diversité génétique assez important chez *Parkia biglobosa* avec des valeurs du nombre moyen d'allèles par locus, du pourcentage de polymorphisme et du taux d'hétérozygotie ($A=4,13$, $P= 100\%$ et $He= 0,343$), plus grandes que les moyennes estimées pour les espèces tropicales qui sont généralement de $P = 60,9\%$ et $He= 0,211$ (Loveless 1992). *Parkia biglobosa* apparaît comme une espèce à diversité génétique élevée comparée à la plupart des espèces tropicales qui ont été étudiées au moyen de l'électrophorèse enzymatique. On note ainsi que pour les populations sénégalaises d'*Acacia senegal*, $He = 0,175$ (Chevalier et al. 1994); pour *Vitellaria paradoxa*, $He = 0,214$ (Lovett & Haq 2000); pour *Carapa procera*, $He = 0,260$ (Doligez & Joly, 1997b); pour *Pentaclethra macroloba* dont l'étude a porté sur toute l'aire de répartition au Costa Rica, $He = 0,074$ (Hall et al. 1994a); pour *Acacia mangium*, $He = 0,025$ (Moran et al. 1989b). Le niveau de diversité de *Parkia biglobosa* est également plus élevé que celui d'un certain nombre d'espèces cheiroptérochores étudiées: *Hymenaea courbaril*, $He = 0,118$ (Dunphy et al. 2004), *Stenocercus griseus*, $He = 0,182$, *Cereus repandus*, $He = 0,242$, *Pilosocereus lamuginosus*, $He = 0,274$ (Nassar et al. 2003). La comparaison avec des espèces de zones tempérée dont la moyenne du taux d'hétérozygotie est de $0,145$ (Hamrick et al. 1992) indique un niveau d'hétérozygotie attendue chez *Parkia biglobosa* plus élevé. Quelques espèces exhibent une diversité génétique plus importante. Ce sont notamment *Faidherbia albida* avec $He = 0,454$ (Joly et al. 1992) et *Picea sitchensis* (Bong) avec $He = 0,580$ (Gapare et al. 2005).

Le niveau et la répartition de la diversité génétique d'une espèce sont déterminés par une série de caractéristiques génétiques, écologiques et par l'histoire évolutive de cette espèce (Hamrick et al. 1992, Loveless 1992, Yeh 2000). L'importance relative des facteurs écologiques et historiques dépend de l'échelle spatiale et temporelle des études menées (Rivera-Ocasio et al. 2002). L'étendue de l'aire de répartition, le système de reproduction et la densité des populations peuvent constituer des facteurs déterminants du niveau de diversité génétique élevée de *Parkia biglobosa*.

L'étendue de l'aire de répartition est en effet considérée comme le principal prédicteur de la diversité génétique intra-population, les grandes étendues continues facilitant le maintien d'un niveau de diversité génétique élevée chez les plantes. En effet, elles sont moins soumises aux effets de la dérive génétique (fixation de gènes), exhibant de ce fait une plus grande variation génétique (Mitton 1983). *Parkia biglobosa* occupe une aire géographique intégrant une vingtaine de pays répartis d'ouest en est de l'Afrique depuis le Sénégal sur la Côte Atlantique jusqu'en Ouganda à l'est sur environ 5000 km (Hopkins 1983, Bonkougou, 1987, Hall et al. 1997). Par ailleurs, le système de reproduction majoritairement allogame, avec des taux d'allofécondation proches de 1 (voir Chapitre 2) pourraient également expliquer le niveau de diversité génétique élevé chez *Parkia biglobosa*. En effet, Hamrick et al. (1992) établissent que les espèces allogames, pollinisés par les animaux présentent un niveau de diversité génétique plus élevé que les autres catégories d'espèces. En effet, en promouvant la fécondation croisée, l'implication active de chauve-souris comme *Epomophorus gambianus* et *Nanonycteris veldkampii* au Ghana (Backer & Harris 1957), *Eidolon helvum* et *Micropteropus pusillus* au Nigéria (Hopkins 1986) et d'insectes, principalement les abeilles (*Apis mellifera*) au Burkina Faso (Ouédraogo 1995) dans la pollinisation de *Parkia biglobosa*, favorise un échange de gènes entre individus d'une population et contribue ainsi à maintenir élevé un niveau de diversité génétique.

La densité relativement importante des populations (10 à 25 arbres/ha) combinée à une floraison assez synchronisée des arbres, la majorité des arbres fleurissant au même moment (Chapitre 2), favorise un brassage de gènes au sein et entre populations et constitue de ce fait des conditions favorables au maintien d'un niveau élevé de la diversité génétique. La répartition de la diversité montre clairement un niveau de diversité plus élevé dans les parties nord du Togo, Ghana et Bénin, aux frontières du Burkina Faso, et quasiment au centre de l'aire de répartition de l'espèce. Dans les populations naturelles d'espèces végétales, la plus forte diversité est attendue au centre de l'origine et cette diversité tend à décroître au fur et à mesure qu'on s'éloigne du centre d'origine.

Les premiers fossiles de pollen du genre *Parkia* datent du Miocène (environ 20 millions d'années) et peut-être du Haut Eocène en Afrique et encore plus loin, du temps de l'Oligocène en Amérique du Sud, laissant supposer l'origine sud-américaine de *Parkia*. Le centre de diversité du genre *Parkia* serait en Amazonie (Hopkins 1983). *Parkia biglobosa* se serait donc formé originellement en Afrique à la suite de dispersion océanique de fragment en provenance d'Amérique latine (Backer & Harris 1957, Hopkins 1986, Luckow & Hopkins 1995). Selon la plupart des considérations sur la théorie de la dérive des continents, la séparation des continents actuels a commencé à l'aire du Mesocène, mais jusqu'à l'époque de l'Eocène, il persistait une relation entre l'Amérique du Sud et l'Afrique de l'Ouest en matière d'espèces communes (Baker & Harris 1957; Wulff 1943). On peut émettre l'hypothèse que la partie centrale de l'aire de distribution de *Parkia biglobosa*, localisée au niveau des trois pays côtiers (Togo, Ghana et Bénin) pourrait avoir été colonisée en premier, ce qui expliquerait le niveau de diversité plus élevé dans ces trois pays. L'espèce se serait ensuite progressivement répandue dans deux directions opposées: à l'Ouest, vers les zones qui comptent aujourd'hui le Niger, le Burkina Faso, le Mali, la Côte d'Ivoire, le Sénégal, la Guinée et à l'Est, vers la sous-région où sont localisés aujourd'hui le Tchad, le Nigeria, le Cameroun, la Centrafrique et l'Ouganda. La propagation du néré a été sans doute favorisée par l'installation des populations humaines et l'occupation des terres dans les différentes zones. Le rythme d'expansion ne semble pas avoir été le même dans les deux sens, les conditions climatiques à l'ouest étant certainement plus favorables au développement de l'espèce. *P. biglobosa* étant une espèce typique de savane et dont la condition optimale de développement est une pluviométrie comprise entre 500 mm et 1500 mm, sa propagation dans les pays forestiers s'est limitée aux zones les moins humides.

Il est intéressant de remarquer que contrairement à certaines espèces locales dont la longueur du cycle de reproduction est particulièrement longue, le développement de *Parkia biglobosa* est relativement rapide et la maturité sexuelle de l'arbre est atteinte au bout de quelques années seulement (à partir de sept à huit ans selon les expérimentations du CNSF), ce qui a dû faciliter la propagation de l'espèce. Il est fort probable que les différentes utilisations du néré, en particulier alimentaires aient influencé la dynamique de la distribution de l'espèce dont le rythme de propagation a dû connaître une certaine progression ces siècles derniers. La répartition de la diversité indique que l'espèce s'est davantage intégrée dans les zones ouest plutôt qu'à l'Est. En effet, suite aux missions de prospections et de récolte par les équipes du CNSF, il est apparu que l'espèce était fortement présente au Burkina Faso, au Mali au nord de la Côte d'Ivoire, au Bénin, au Ghana et au Togo. Cette forte présence est sans doute liée à l'histoire commune des peuples d'Afrique de l'Ouest, caractérisée par la pratique de rites et coutumes communs, des mouvements migratoires des hommes entre les différents pays et aussi par des affrontements inter-ethniques. Il est très vraisemblable que pendant les guerres de conquêtes, les fruits du néré, faciles à transporter et à conserver, ont pu être disséminés à travers les pays de la sous-région. Ainsi par exemple, la légende mentionne des transports importants de pulpe et de graines de néré par les armées de Samory Touré pour l'alimentation des combattants, au cours de leurs conquêtes en Afrique de l'Ouest au 19^{ème} siècle, ce qui a dû contribuer à propager l'espèce (Ouedraogo 1995). De même, l'invasion vers 1500 A.D. des peuples Dogon, Lela, Nuna et Kurumba dans le bassin de la Volta par des guerriers venus de l'actuel Nord Ghana et qui formèrent la société Mossi (Fage 1964, Wilks 1972) a pu donner également l'occasion de transport et d'utilisation de fruits de néré. La pratique des langues communes comme par exemple le gourmanchéma au Burkina Faso, Bénin, au Niger et au Togo, la répartition des groupes Senoufo et Juula en Côte d'Ivoire, au Mali et au Burkina Faso témoignent des relations parentales séculaires entre les populations de ces différents pays et des mouvements migratoires qui ont pu aussi contribuer à véhiculer le néré. De nombreuses autres pratiques culturelles communes au Nord Est de la Côte d'Ivoire, au Nord Ghana et au Burkina Faso (SIL International 2005) constituent des voies possibles de diffusion de l'espèce. En effet dans plusieurs sociétés traditionnelles de la sous-région ouest-africaine, le néré est une espèce symbolique dont les utilisations sociales dans les différentes étapes marquantes de la vie des individus et de la société, pourrait s'accompagner de sa propagation entre les différentes

communautés. La construction du chemin de fer Abidjan-Ouagadougou entre la Côte d'Ivoire et le Burkina Faso aurait également favorisé l'expansion de l'espèce dont les fruits étaient très consommés par les ouvriers. La présence de peuplements de *Parkia biglobosa* le long de la voie ferrée en est un témoignage.

Par ailleurs, l'existence de nombreux parcs agroforestiers à *Parkia biglobosa* et *Vitellaria paradoxa* notamment, dans le paysage soudanien laisse clairement supposer l'intervention de l'homme dans la sélection des espèces d'intérêt. Les pratiques humaines auraient ainsi, depuis des millénaires construit, façonné et modelé les parcs agroforestiers dont ceux du néré (Ouedraogo 1995). Dans certains cas, la savane qu'on croit être d'anciennes forêts dégradées par l'homme résulte bien souvent d'un processus de régénération naturelle et/ou artificielle, favorisé ou entrepris par les populations locales, au delà des limites des forêts (Fairhead et Leach 1995). La découverte des restes de noix de karité (*Vitellaria paradoxa*) et du charbon dans des excavations de villages en Afrique de l'Ouest, datant d'environ 1000 ans A.D., de même que d'abondants restes d'épis de petit mil (*Pennisetum glaucum*), témoignent du développement d'un système agroforestier à partir d'anciennes prairies (Neumann et al. 1998). Les analyses archéobotaniques indiquent en effet que la production du mil était intensifiée et que le système de la savane-parc était établi au cours de la formation de buttes d'occupation dans le Sahel burkinabé. Ainsi dans le village sahélien de Saouga, la protection des arbres d'espèces utilitaires comme *Faidherbia albida*, *Vitellaria paradoxa*, *Sclerocarya birrea*, *Tamarindus indica* et *Adansonia digitata* semblait être associée à la production du mil (Neumann et al. 1998). L'intervention de l'homme est également mise en évidence par Ballouche & Neumann (1995) qui démontrent que vers 3000 ans B.P., la formation graminéenne fermée d'Oursi (Sahel burkinabé) s'est ouverte sous l'effet d'activités agro-pastorales, tandis que à Gajiganna (nord-est du Nigeria), des plantes indicatrices de pâturage ont été mises en relation avec la présence de bétail. Ces faits et événements permettent de supposer que l'impact de l'activité humaine semble avoir été le facteur dominant dans l'histoire de la végétation du Sahel depuis environ 3000 ans à nos jours, réduisant ainsi les possibles effets des changements climatiques (Ballouche & Neumann 1995).

En définitive, il est possible que le niveau et la répartition actuels de la diversité génétique de *Parkia biglobosa* aient été davantage modelé par un flux de gènes contemporain plutôt que par des événements historiques.

Une différenciation génétique entre populations conforme à la biologie de la reproduction et à la distribution géographique de l'espèce

La présente étude a révélé une différenciation génétique de 0,13 entre les populations étudiées de *Parkia biglobosa*, assez conforme à la valeur moyenne de 0,119 estimée pour les espèces tropicales par Loveless (1992). C'est une valeur qui est comparable à celle rapportée pour *Faidherbia albida*, une espèce ligneuse soudano-sahélienne, avec $F_{st} = 0,123$ (Joly et al. 1992), *Pithecellobium elegans*, une espèce tropicale des forêts humides, avec F_{st} variant entre 0,102 et 0,107 (Hall et al. 1996), *Ancistrocladus korupensis*, une liane camerounaise avec $F_{st} = 0,115$. Elle est également du même ordre de grandeur que le G_{st} calculé pour les conifères anémophiles, qui est de 0,100 (Hamrick & Godt 1989). En revanche, certaines espèces présentent une différenciation génétique bien supérieure à la notre. Ce sont notamment les exemples de *Elaeis guineensis* dont le $F_{st} = 0,301$ (Hayati et al. 2004), *Acacia auriculiformis* pour lequel $G_{st} = 0,270$ (Wicknesmari & Norwati 1993), *Acacia mangium* avec $G_{st} = 0,311$ (Hamrick & Godt 1989), *Acacia tortilis* subsp. *raddiana*, espèce caractéristique des zones sèches d'Afrique, avec $F_{st} = 0,594$ (Shrestha et al. 2002) et les *Eucalyptus* entomophiles avec $G_{st} = 0,174$ (Moran & Bell, 1983). Une dernière catégorie d'espèces regroupant des espèces tropicales et tempérées se caractérisent par la faiblesse de la différenciation génétique entre les populations. On retiendra particulièrement *Vitellaria paradoxa*, une espèce agroforestière de la zone soudano-sahélienne, pour laquelle les valeurs de F_{st} sont de 0,0124; 0,026 et 0,047 selon les auteurs (Lovett & Haq 2000, Cardi et al. 2005, Sanou et al. 2005), *Cecropia obtusifolia* avec $F_{st} = 0,029$ (Alvarez-Buylla & Garay 1994), *Pinus nigra* dont le $G_{st} = 0,07$ (Tolun et al. 2000) et

Hymenaea courbaril, une espèce cheiroptérochore des forêts sèches sud-américaine, avec $Gst = 0,079$. Il convient de noter que dans le cas de *Vitellaria paradoxa*, l'analyse a été faite à l'aide de marqueurs microsatellites par certains des auteurs ci-dessus cités tels Sanou et al. (2005), ce qui explique les très faibles valeurs obtenues.

Compte tenu du système de pollinisation de *Parkia biglobosa* dont les principaux vecteurs sont des chauve-souris, reconnus comme de grands voyageurs (Hopkins 1983, Backer & Harris 1957, Handley et al. 1991), on aurait espéré une différenciation génétique encore plus faible entre les populations. Une corrélation significative a été en effet trouvée entre la différenciation génétique chez plusieurs espèces tropicales et leur potentiel de mobilité génétique estimée à partir de leurs modes de dissémination et de pollinisation (Loveless 1992). En général, le mode de dispersion des semences influence la composition et la structure génétique des populations d'une espèce (Hamrick et al. 1993). Le transport de pollen par les chauve-souris d'un arbre à un autre et peut-être entre populations devrait avoir pour effet d'augmenter le flux de gènes entre les populations. Les échanges de gènes entre populations homogénéisent la variation génétique spatiale et entraînent une réduction de la différenciation génétique entre populations (Slatkin 1985). Le flux de gène estimé dans le présent travail ($Nm = 1,61$) s'avère toutefois relativement peu élevé, comparé par exemple à celui du *Vitellaria paradoxa* qui est de 5,07 et 19,9 (Lovet & Haq 2000, Sanou et al. 2005), ou à celui de *Carapa guianensis* de 4,10 (Hall et al. 1994b) ou encore à celui d'*Albizia lebeck* dont la valeur est de 2,32 (Dunphy et al. 2004). En revanche, des valeurs plus faibles sont aussi rapportées, notamment pour une collection africaine de palmier à huile (*Elaeis guineensis*), étudiée par Hayati et al. (2004), avec $Nm = 0,576$. Cette différenciation modérée entre populations de néré a été également mise en évidence par Ouédraogo (1995) sur la base de caractères morphologiques des arbres et des fruits et de l'analyse biochimique des graines et de la pulpe. Ce niveau de différenciation peut avoir trois explications possibles ci-dessous développées.

L'efficacité de la pollinisation chez *Parkia biglobosa* pourrait être influencée par les distances parcourues par les chauve-souris. Plus les distances de vols entre populations visitées sont grandes et moins il y aurait de chance de succès de la pollinisation. Il n'existe pas de données relatives à ce paramètre mais Backer & Harris (1957) ont bien observé les mouvements de chauve-souris (*Epomophorus gambianus*) d'un peuplement de néré à un arbre de *Ceiba pentandra*, autre espèce cheiroptérochore, à moins d'une trentaine de mètres de distance. En passant ainsi d'une espèce à une autre, ces chauve-souris ne participent pas à assurer effectivement un mouvement de pollen entre populations de néré. Il paraît donc important de connaître le niveau d'intervention de chaque espèce de chauve-souris dans les échanges de gènes entre populations de néré distantes les unes des autres. En effet des mesures de flux de gènes ($Nm = 0,40$ et $0,63$) réalisées au Puerto Rico (Antilles) sur *Hymenaea courbaril*, espèce pollinisée principalement par la chauve-souris jamaïcaine, ont permis d'établir ainsi que les capacités de cette chauve-souris à se déplacer sur des longues distances ne s'accompagnaient pas toujours d'un flux de gènes (Dunphy et al. 2005). De plus, les chauve-souris ont tendance à fréquenter les mêmes zones, souvent même quelques arbres de la même zone (Handley et al. 1991). Ceci n'est pas en revanche, le cas de *Leptonycteris curasoae*, une chauve-souris reconnue pour ses performances exceptionnelles à bituner dans des populations distantes de 14 km et à voler jusqu'à 100 km au cours de la même nuit (Hoerner et al. 1998). Aussi, conviendrait-il peut-être de relativiser le rôle des chauve-souris dans la zone soudano-sahélienne pour au moins une raison, qui est la faible disponibilité de ressources alimentaires dans les parcs agroforestiers dominés par *Vitellaria paradoxa* et *Parkia biglobosa*, pour des chauve-souris frugivores. En effet, *Parkia biglobosa* se retrouve dans les jachères, exploitations agricoles dans ou aux environs des villages, et presque absent dans les forêts classées, réserves de faune et de chasse où les activités agricoles sont réduites, sinon absentes (Ouédraogo 1995). La floraison de l'espèce se situe entre février et avril, période sèche pendant laquelle très peu d'espèces sont en fruits. Backer & Harris (1957) note que des chauve-souris non migratrices telles *Epomophorus gambianus* ne pourraient se contenter du nectar de *Parkia biglobosa* pour leur alimentation, ce qui suppose la nécessité de l'existence de sources alternatives d'alimentation. Et si les résultats des travaux de

Medellin et al. (2000) réalisés en zone forestière humide d'Amérique du Sud, établissant la diversité et l'abondance des chauve-souris comme indicateurs de l'état de dégradation des forêts, étaient rapportés en Afrique, ceci confirmerait la faible présence des chauve-souris en zone soudano-sahélienne. En effet, Ouédraogo (1995) constate une faible implication des chauve-souris dans la pollinisation de *Parkia biglobosa* au Centre du Burkina Faso en zone soudano-sahélienne. Par ailleurs le niveau relativement élevé de la corrélation de paternité (r_p variant de 0,299 à 0,512) trouvée dans les 2 populations du Burkina Faso (voir Chapitre 2), indiquant l'implication d'un nombre peu élevé de donneurs de pollen pour chaque arbre, laisse supposer une intervention limitée des chauve-souris dans lesdites populations.

La deuxième explication pourrait être le mode de dissémination des graines. Les fruits de *P. biglobosa* à maturité restent solidement fixés à l'arbre par de longs pédoncules et la collecte puis la consommation des fruits sont avant tout le fait de personnes. A cette occasion, des graines peuvent être rejetées dans la nature à proximité ou à distance plus ou moins grande des zones de récolte. Cependant, compte tenu de la période de maturité des fruits (avril à juin) correspondant à la saison sèche en zone soudano-sahélienne, zone de prédilection du néré, il est probable qu'une faible proportion de graines survivent et régénèrent en saison pluvieuse. Cependant, compte tenu que les premières pluies peuvent tomber à partir de juin et que les graines de néré ont une tendance orthodoxe et peuvent conserver leur viabilité pendant plus de 2 mois avant l'installation des pluies régulières, il est donc possible qu'une certaine proportion de ces semences puissent germer. La pression sur les terres agricoles étant de plus en plus forte dans la zone soudano-sahélienne en particulier, ces nouvelles plantules auront toutefois peu de chance d'être épargnées lors des opérations culturales (Nikiéma 1993, Ouédraogo 1995). Par ailleurs le commerce de graines de néré entre villages et entre pays voisins constitue également une source peu sûre de dissémination de l'espèce, la viabilité de ces graines n'étant pas garantie en raison des conditions de conservation et de manutention peu appropriées. Et comme cela est connu, l'essentiel des transactions commerciales portent sur des graines préparées, ce qui ne contribue pas véritablement à la dissémination de l'espèce. Aussi, il n'est pas rare que des fruits entiers récoltés et conservés réapparaissent en saison pluvieuse, pendant la période de soudure, période favorable à la germination des graines disséminées. L'impact de l'activité humaine sur la structuration génétique de *P. biglobosa* reste malgré tout importante, mais sans doute à un moindre degré que ce qui est observé chez *Vitellaria paradoxa* pour lequel la mise en place et la gestion millénaire des parcs (Maranz & Wiesman 2003) d'une part et le transport et le commerce de graines entre villages d'autre part, auraient contribué à la faible différenciation entre les populations (Lovett & Haq 2000). Le rôle des animaux sauvages (chimpanzés) et des oiseaux dans la dissémination des graines de néré signalé par Backer & Harris (1957) et Hopkins (1983), paraît aléatoire et marginal et pourrait concerner plus les zones forestières. En effet, la proximité des parcs à néré zones d'habitation exclut ou réduit la présence des animaux comme les singes.

L'étendue de l'aire de répartition de *Parkia biglobosa* pourrait expliquer le niveau relativement faible de la différenciation entre les populations. En général, les espèces qui ont une aire de répartition étendue présente une faible différenciation entre les populations (Hamrick et al. 1992). Il est aussi établi que plus les populations sont éloignées entre elles et plus elles auront tendance à être génétiquement différenciées, conséquence d'une baisse du flux de gènes (Loveless 1992). Ceci est corroboré par un certain nombre de travaux portant sur *Faidherbia albida* avec $F_{st} = 0,06$ pour des populations du Burkina Faso (Sina 1992), $F_{st} = 0,075$ pour des populations ouest-africaines et $F_{st} = 0,123$ pour l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce (Joly et al. 1992). Ceci est également illustré à travers les résultats de Hall et al. (1994b), qui ont trouvé pour *Carapa guianensis* un G_{st} global de 0,22 et un G_{st} très faible de 0,05 pour des populations distantes de quelques kilomètres seulement, et une augmentation de la différenciation entre des populations de plus en plus distantes les unes des autres. En réalisant des études à des échelles de taille plus réduites, soit à un niveau local (pays) soit à un niveau régional (groupe de pays), cela permettrait

certainement de mettre en évidence des flux de gènes plus élevés et une différenciation plus faible entre les populations.

En conclusion, la présente étude aura permis de mettre en évidence chez *Parkia biglobosa*, un niveau élevé de diversité génétique, principalement d'origine intra-population. Trois facteurs essentiels dont les activités anthropiques, la biologie de la reproduction de l'espèce et son histoire évolutive expliquent sa structuration génétique actuelle. Aussi, l'origine unique de l'espèce, établie à travers son histoire est corroborée par les faibles distances génétiques trouvées entre les populations analysées. La capture de la variation génétique existante au sein de l'espèce constituera une étape importante dans le cadre de la conservation des ressources génétiques de *Parkia biglobosa* dont les populations sont de plus en plus dégradées.

4- Conservation des graines

Résumé

Les conditions de conservation de lots de graines *Parkia biglobosa* dans la banque de semences du CNSF ont été évaluées dans la perspective de contribuer à une meilleure conservation de ses ressources génétiques. Les optima de germination ont ainsi été déterminés pour des semences de 23 populations d'Afrique de l'Ouest et du Centre, sélectionnées sur la base de leur niveau élevé de diversité génétique, ainsi que pour des lots commerciaux de semences collectées au Burkina Faso et âgées de 0 à 20 ans. Les essais de prétraitements à l'acide effectués sur des lots de différents âges ont montré que la durée de conservation n'a aucun effet sur le prétraitement optimum initialement identifié et préconisé pour l'espèce. Le même prétraitement reste valable et peut être appliqué aux graines, quel que soit leur âge (entre 0 et 20 ans). La variation des teneurs en eau des semences conservées à 4°C au CNSF s'explique par les fréquentes ouvertures des sachets plastiques lors des prélèvements de graines effectués dans la chambre froide à plus de 75% HR, sans précautions spéciales. A cause de la porosité partielle des téguments de *P. biglobosa*, le rééquilibrage des graines dans cette humidité relative entraîne subséquemment une élévation de la teneur en eau (TE). Ces graines subissent une réduction de leur viabilité, quoiqu'elles puissent avoir une longévité importante (95% de germination à plus de 11 ans de conservation) si elles sont séchées et conservées convenablement dans des conteneurs hermétiques. L'isotherme d'absorption d'eau construit pour l'espèce, a révélé que le niveau de TE \leq 5% recommandé correspond à une humidité relative (HR) autour de 10% chez *P. biglobosa*. Nous proposons alors des méthodes de suivi des TE des graines et leur manipulation appropriée pendant la conservation afin de prolonger leur longévité en chambre froide.

Abstract

The storage conditions of *Parkia biglobosa* seeds in CNSF seed bank were assessed in order to ensure better conservation of these genetic resources. Methods for optimum germination were identified for seeds of stored commercial lots from Burkina Faso aged between 0 and 20 years, and as well as for seeds of 23 populations from West and Central Africa that were selected because of high level of genetic diversity. The results of the acid pre-treated stored seeds showed no significant effects of the storage period on the initially identified and recommended optimum pre-treatment for the species. The same pre-treatment can be used independent of the age of seeds between 0 and 20 years. The variation of seed MC during storage at 4°C at CNSF could be explained through inappropriate handling of seeds, i.e. the regular opening of the plastic bags containing seeds within the cold room at >75% RH, without any precaution. Because of the porosity of *P. biglobosa* seed integuments, the seeds therefore equilibrate with this high RH condition and so increase their actual MC. Seed viability subsequently decreases, despite the fact that they can maintain great longevity (95% germination after 11 years storage) when they are properly dried and conserved in hermetic containers. The constructed water sorption isotherm for *P. biglobosa* revealed that the recommended level of \leq 5% MC corresponds to about 10% RH. We suggested monitoring and handling procedures for conserving seeds in order to improve their longevity during storage in the cold room.

[Chapitre en preparation pour publication, avec la collaboration de M. Sacande et R.W. Oubida]



Chapitre 4

CONSERVATION A LONG TERME ET GERMINATION OPTIMALE DE GRAINES DE *Parkia biglobosa*

4.1. Introduction

Parkia biglobosa est une espèce soudanienne africaine de grande importance socio-économique, dont le développement des peuplements est compromis par les effets conjugués de certaines pratiques anthropiques et des conditions climatiques défavorables. Considérée comme vulnérable au Burkina Faso (MEE 1999), des actions à l'échelle du continent sont nécessaires pour assurer sa préservation. La conservation des ressources génétiques forestières est en effet capitale pour conserver la diversité génétique et biologique de peuplements viables dans le long terme et pour assurer une disponibilité permanente de gènes pour les besoins des programmes de recherche et de développement. La conservation *in situ* a l'avantage de permettre le maintien des processus naturels de sélection, du potentiel d'évolution et de la capacité d'adaptation de l'écosystème, mais l'envergure de la tâche et les nombreuses contraintes liées à cette forme de conservation, implique la mise en œuvre d'une stratégie complémentaire, la conservation *ex situ*. La conservation *ex situ* du matériel végétal se fait dans les banques de semences ou de gènes, les peuplements semenciers, sous la forme de culture *in vitro* et de culture des tissus reproductifs. Un des ambitieux projets de conservation des espèces sauvages, est entrepris par le Royal Botanic Gardens, Kew au Royaume Uni. Cette initiative, le Millennium Seed Bank (MSB) project, de conservation *ex situ* des espèces sauvages menacées est la plus grande de nos jours et se développe en collaboration avec des organisations d'une vingtaine de pays dont le Burkina Faso. Elle vise à récolter et conserver plus de 24000 espèces végétales (Angiospermes) vulnérables du monde, en accordant la priorité aux espèces vulnérables des zones sèches de la planète (RBG Kew, 2002).

La conservation *ex situ* est l'une des mesures de conservation relativement efficace et rapide pour les essences qui produisent des semences tolérant la dessiccation. Ce sont les semences les plus fréquentes et sont souvent décrites comme graines sèches (exemple: les graines d'*Acacia*). En effet, ces graines dites orthodoxes (Roberts 1973) peuvent être conservées à long terme à un contenu hydrique souvent inférieur à 5%, dans des conteneurs hermétiques (sans aucun échange d'eau et d'air avec le milieu extérieur) et à de basses températures, à environ -18°C (FAO/IPGRI 1994). Sous ces conditions, les semences orthodoxes peuvent avoir une longévité de plusieurs centaines d'années (Roberts 1986). En revanche, les graines intolérantes à la dessiccation sont les graines dites récalcitrantes (Roberts 1973), et dans une certaine mesure les graines dites intermédiaires (Ellis et al. 1990). Ce type de graines tolèrent partiellement la dessiccation jusqu'à une teneur en eau assez élevée. Les semences récalcitrantes, elles, perdent leur viabilité lorsqu'elles sont séchées en dessous d'une teneur en eau relativement élevée, souvent dans l'intervalle de 20 à 50% (rapport au poids frais) et de ce fait ne peuvent pas être conservées pendant de longues périodes, souvent quelques mois seulement (Hong et al. 1998). Un certain nombre d'espèces tropicales, comme *Vitellaria paradoxa*, appartiennent à cette catégorie (Gamene et al. 2004). Quant aux semences de classe intermédiaire, elles peuvent survivre à une dessiccation jusqu'à des teneurs en eau relativement basse (environ 10% et même moins), mais les semences séchées sont endommagées par de basses températures de conservation (Ellis et al. 1990). Les espèces comme *Azadirachta indica* et *Coffea arabica*, ont des graines intermédiaires (Ellis et al. 1990, Hong et al. 1998, Sacandé 2000). La conservation des graines, même orthodoxes, exige l'application rigoureuse de la dessiccation avant le stockage afin de garantir la longévité et les chances de survie.

Les graines de *P. biglobosa* possèdent une dormance tégumentaire partielle et germent sans difficulté lorsque les téguments sont corrodés avec précaution. Des études réalisées au CNSF et ailleurs ont établi que les graines de néré sont orthodoxes (SID 2004) et ne perdent pas leur viabilité quand elles sont conservées dans des conditions hermétiques à 4°C pendant un an (Somé et al. 1990). Clethero (2002) a trouvé que moins de 20% des graines de *P. biglobosa* s'imbibaient d'eau et pouvaient germer seulement sur une période prolongée de près de 40 jours d'incubation. L'inhibition tégumentaire (ou dormance physique), souvent observée chez les espèces tropicales des zones sèches, dépend de barrières physiques composées d'une ou de plusieurs rangées de cellules imperméables au niveau des enveloppes protectrices de la graine ou du fruit (Baskin & Baskin 1998). Pour lever ce type de dormance, il est nécessaire de créer une brèche dans le tégument afin de permettre l'imbibition de l'embryon et la germination par la suite. Cela peut se produire par la scarification manuelle, mécanique ou par l'utilisation d'acide sulfurique concentré (méthodes généralement les plus efficaces), la cuisson, l'ébouillantage, la stratification, l'alternance de périodes chaudes et froides ou humides et sèches etc. Ces prétraitements permettent aux graines de germer non seulement rapidement, mais également de façon optimale et uniforme, et souvent réduisent les contaminations fongiques.

Les graines de plusieurs espèces orthodoxes conservées au CNSF, ont une dormance physique et exigent généralement un prétraitement efficace à même d'assurer leur bonne germination. Ces semences « dures » sont généralement prétraitées par la scarification manuelle, mécanique ou acide, l'ébouillantage et la cuisson. Ainsi, 14 types de prétraitements ont été développés par le CNSF et sont appliqués aux semences d'espèces non encore étudiées, afin de déterminer les prétraitements optimaux pour ces espèces (Gamene 1987). Il est important de connaître tous les facteurs qui influencent le prétraitement pour une meilleure expression du pouvoir germinatif des semences. Cependant le prétraitement préconisé pour une espèce ayant été déterminé sur la base de jeunes lots de graines, pourrait ne plus être convenable pour les lots d'un certain âge. Par exemple, Clethero (2002) a démontré que les téguments des semences provenant de lots âgés de *Adansonia digitata* avaient une texture élastique et posaient moins de difficulté à la scarification, comparée aux téguments des graines de la même espèce, récemment récoltées. Il est donc impératif d'évaluer l'effet du temps de conservation sur l'efficacité du prétraitement pour une meilleure expression de la viabilité des lots de semences conservées.

La présente étude qui a été menée au laboratoire de semences du CNSF vise à évaluer les conditions optimales de conservation à long terme des semences de *P. biglobosa*. Les semences analysées proviennent de récoltes réalisées au Burkina Faso, et en Afrique de l'Ouest et du Centre dans 23 populations sélectionnées sur la base de leur niveau de diversité génétique (voir Chapitres précédents). Nous discutons l'impact des méthodes de manutention des semences au CNSF pour la conservation à long terme, et proposons des améliorations à ces méthodes, afin de garantir et de prolonger la longévité des graines en conservation, dans le cadre général de la gestion durable des ressources phytogénétiques.

4.2. Matériel végétal et méthode

4.2.1. Matériel végétal

Les lots de semences de différents âges, conservées en chambre froide au CNSF ont été utilisées pour les tests de prétraitements, de teneurs en eau et pour les essais de germination. En plus des graines des 23 populations sélectionnées en fonction de leur niveau de diversité génétique, nous avons analysé les graines de 5 autres populations conservées dans des sachets plastiques à 4°C et à environ 75% HR en chambre froide pendant des périodes de moins de 1 an, de 3 ans, de 14 ans, de 19 ans et de 20 ans. Les semences ont été mélangées dans les sachets avant le prélèvement d'échantillons d'analyse représentatifs.

4.2.2. Méthode

Prétraitement des graines conservées

Les graines ont été prétraitées à l'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré à 98%. Les tests de prétraitement ont été effectués sur des lots d'âges différents afin d'évaluer l'effet de la durée de conservation des graines sur le prétraitement optimal initialement identifié par le CNSF. Les lots de graines ont ainsi été trempés dans l'acide pendant 5, 7, 8, 9, 10, 11 et 20 minutes. A la fin de chaque temps de prétraitement, la solution d'acide est drainée et les graines sont rincées abondamment avant leur trempage dans l'eau pendant 24 h à la température ambiante au laboratoire. Les échantillons prétraités sont répartis en 2 répétitions de 50 graines, pour ensuite être mis à germer dans des boîtes de germination.

Germination des semences

Des essais de germination ont été menés sur des lots de semences d'âges compris entre 0 et 20 ans après leur prétraitement afin d'évaluer leur viabilité. La viabilité des lots a donc été déterminée sur la base du pourcentage de germination des graines. Ainsi, pour chaque essai de germination, 2 répétitions de 50 graines (ISTA 2004) ont été semées dans des lits de semis imprimés avec un plancher sur le sable humidifié à l'eau distillée contenu dans les boîtes de germination (5x13x17 cm). Les boîtes ont été ensuite disposées sur des tables de germination dans les conditions ambiantes du laboratoire, à une température comprise entre 25° et 30°C. Des relevés de germination ont été effectués tous les 2 jours, et ce, pendant 28 jours.

Les données des essais de germination ont ensuite été traitées par la méthode statistique d'analyse descriptive avec le logiciel Minitab. Les données des essais de germination ont ensuite été traitées par la méthode statistique d'analyse des variances avec un seuil de signification de 5%. Compte tenu du fait que les données sont en pourcentage comprises entre 0 et 1, elles ont subi une transformations angulaire ($\arcsin[\text{racine de \% de germination}]$) sur le logiciel Excel. Les valeurs 0 et 1 ont été améliorées en les remplaçant respectivement par $1/4n$ et $1-1/4n$ avec n = nombre d'observations sur la base desquelles a été calculé le pourcentage de germination ($n = 50$) avant de procéder à la transformation angulaire. Ces données ont par la suite été analysées par les méthodes statistiques d'analyse de variance à un et à deux facteurs (Lot et prétraitement) avec le logiciel Minitab.

Teneurs en eau (TE)

Les mêmes lots de semences qui ont servi pour les essais de germination, ont été utilisés pour la détermination de la teneur en eau. A cet effet, nous avons prélevé 5 échantillons correspondant aux différentes durées de conservation. Chaque échantillon a été reparti en 5 répétitions de 5 grammes. Les graines ont ensuite été mises dans des coupelles dont les poids à vide ont été mesurés. Les coupelles, contenant les semences fraîches, ont été pesées puis passées successivement à l'étuve à 103°C pendant 17 h et dans le dessiccateur pendant 30 minutes (ISTA 2004). Après le séchage des semences, les coupelles contenant les semences ont été de nouveau pesées et la teneur en eau a été estimée sur la base de la masse fraîche des graines par la formule suivante:

$TE (\%) = (Mf - Ms)/Mf * 100$ (Mf = masse fraîche des graines, Ms = masse sèche des graines).

Parce que les graines sont hygroscopiques, leur teneur en eau est influencée et équilibrée avec l'humidité relative environnante. Des échantillons ont été placés dans des humidités relatives contrôlées afin de déterminer la TE équilibrée des graines à la température ambiante de 30°C au laboratoire. Nous avons utilisé deux séries de 10 solutions de concentration différentes correspondant à des humidités relatives différentes (Sacandé et al. 2004). Ainsi, ont été préparées une HR de 3% avec du gel de silice et 10 solutions de Chlorure de Lithium (LiCl; BDH Laboratory Supplies, Poole, UK) de 85, 70, 60, 50, 40, 30, 25, 20, 15 et 10 g/100 ml, dans des bocal hermétiquement fermés, et utilisées pour produire les valeurs nominales d'HR de 11, 13, 22, 32, 48,

62, 68, 76, 91 et 94%, respectivement. Un enregistreur Rotronic Hygroskop DT (Rotronic AG, Switzerland) a permis de contrôler les solutions et a révélé une variation de 2-3% de chaque valeur nominale. Les graines ont été ensuite scarifiées et incubées au-dessus des solutions dans les récipients hermétiquement clos. Les graines sont équilibrées lorsqu'au cours des pesées régulières leur poids demeure constant dans ces conteneurs. Nous les prélevons donc en 5 répétitions de 5 graines pour mesurer leur TE comme décrit plus haut. Ainsi, la relation entre la TE des semences et l'humidité relative (HR) de l'air permet de construire un isotherme d'absorption d'eau des semences de l'espèce. Cet isotherme permet de connaître les TE spécifiques de séchage des graines dans une HR précise.

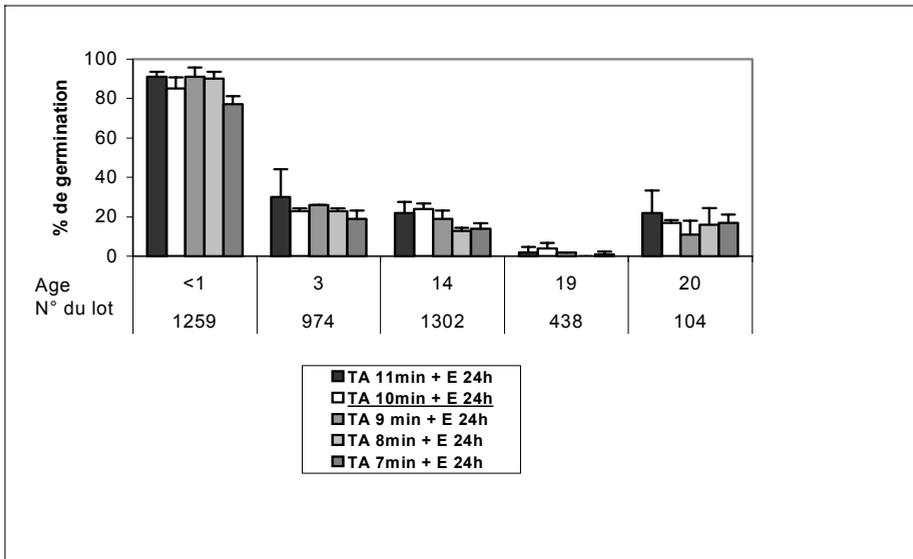


Figure 4.1. Effet de différents prétraitements sur les lots de semences de différents âges de *Parkia biglobosa*. Chaque donnée est le pourcentage moyen de germination potentiel de 2 ou 4 répétitions de 50 graines. Les déviations standard sont représentées par les barres.

4.3. Résultats

4.3.1. Prétraitement des lots de semences conservées

Cinq types de prétraitements ont été appliqués sur les lots d'âges différents. Les résultats montrent que plus le prétraitement est efficace, plus la vitesse et le pourcentage de germination sont élevés. Les graines conservées pendant 20 ans ont un taux moyen de germination de 20%, tandis que celles de moins d'un an germent à environ 90% (Figure 4.1). Ces proportions de germination sont obtenues quelque soit l'un des 5 prétraitements appliqués. Ce même effet des prétraitements s'observe également pour les graines du lot 438 de 19 ans de conservation, qui présentent la plus faible viabilité (taux de germination inférieur à 5%). Pour un même lot, il n'y a pas de différences significatives ($P > 0,05$) entre les taux de germination des graines, quel que soit le prétraitement appliqué. En d'autres termes, le prétraitement témoin de 10 minutes de trempage dans l'acide sulfurique, qui est l'optimum de prétraitement recommandé par le CNSF reste valable pour ces lots de *P. biglobosa* conservés de 1 à 20 ans.

Tableau 4.1. Les graines des 5 lots de semence de *Parkia biglobosa* utilisés dans l'étude ont été conservées dans des sachets plastiques et stockées à 4°C en chambre froide.

Lot CNSF	Age (ans)	Récolte	Conserva tion	Situations des stocks				
				Stockage (conteneur)	TE (%) initiale	G (%) initiale	TE (%) actuelle	G (%) actuelle
1259	<1	12/7/04	12/7/04	4°C (sachets)	-	-	7,63	91
974	3	29/5/01	29/5/01	4°C (sachets)	-	95	7,03	30
1302	14	30/5/90	-	4°C (sachets)	8,56	96	12,09	24
438	19	2/5/85	29/5/85	4°C (sachets)	-	-	10,13	4
104	20	9/5/84	20/12/84	4°C (sachets)	-	98	13,2	22

Nous avons cependant observé une relation de cause à effet entre la viabilité de ces lots et leur contenu hydrique (Tableau 4.1). En effet, les graines de 1 à 3 ans ont environ 7% de TE et germent à 30% et plus, tandis que celles de plus de 10 ans ont plus de 10% TE et germent à 24% et moins. Par exemple, le lot n°1302 qui avait initialement une TE de 8,6% et un taux de germination de 94%, présente après 14 ans de conservation, une teneur en eau de 12,1% et un taux de germination réduit à 24%. Ces résultats prouvent que la baisse de viabilité de ces graines est non seulement due aux effets du vieillissement (durée de conservation), mais également aux changements de TE (conditions de conservation).

4.3.2. Germination des graines des populations sélectionnées

Avec les résultats ci-dessus qui indiquent que le prétraitement témoin et optimum de 10 minutes de trempage dans l'acide sulfurique, recommandé par le CNSF demeure le plus approprié pour les graines de *P. biglobosa* de 1 à 20 ans, nous avons procédé à l'analyse des graines des populations sélectionnées. Les graines des 23 populations sélectionnées ont été testées pour des durées de prétraitement à l'acide sulfurique de 5, 10 et 20 minutes, et les pourcentages de germination les plus élevés obtenus sont présentés dans le Tableau 4.2. A l'exception de quelques lots, toutes les graines ont une germination initiale d'environ 90%. En effet, seul le lot du Bénin a un pourcentage de germination initiale de 52% et ceux du Nigéria germaient à moins de 50% (Tableau 4.2). Les TE enregistrées initialement se situaient généralement autour de 10%, avec une exception remarquable pour les graines de Bawku-East du Ghana qui atteignaient des valeurs de 19%.

Après 11 ans de conservation, la plupart des lots ont connu une élévation de leurs teneurs en eau, quelques uns ont maintenu le même niveau de contenu hydrique et d'autres ont été un peu desséchés. Les conséquences de la durée et des conditions de conservation se sont traduites par la baisse de viabilité de ces graines. Tous les lots ont des taux de germination inférieurs à 50%, et souvent même nuls. Seuls quatre lots germent à 26, 38, 42 et 48% et quatre autres lots présentent des germinations nulles. Tous les autres lots ont des pourcentages de germination variant autour de 10% (Tableau 4.2). Ici également les effets conjugués du vieillissement et des changements de teneur en eau déjà élevée, sont très probablement à l'origine de ces baisses de taux de germination.

Nous avons également analysé en détails la viabilité des graines de 15 descendants de la population de Gaoua. Les résultats des tests de durées de prétraitement à l'acide de 5, 10 et 20 minutes, montrent de grandes variations de germination des graines entre les 15 arbres (Figure 4.2). Les pourcentages de germination varient de 0% pour l'arbre 9, à 95% pour l'arbre 14. En dehors de l'arbre 14, on note que seul l'arbre 1 dépasse 50% de germination et les graines de 3 autres arbres (2, 10 et 13) germent à des taux compris entre 20 et 40%. Les TE de tous ces lots se situent généralement autour de 10% (données non présentées). Le taux de germination exceptionnel de l'arbre 14 nous a amené à regarder de près les conditions de conservation de ce lot. Il ressort que seules les graines de cet arbre avaient été conservées à 5,6% TE, la plus basse TE de tous les lots étudiés, et qui a été maintenue au cours de la conservation.

Tableau 4.2. Résultats de germination (% \pm écart-type) des semences des 23 populations de *Parkia biglobosa* sélectionnées selon leur diversité génétique. Les graines ont été conservées dans des sachets plastiques en chambre froide à 4°C, pendant plus de 10 ans. Des prélèvements sporadiques d'échantillons ont été faits pour divers besoins au cours de la conservation.

Pays	Populations (Provenances)	Pluviométrie (mm)	Nombre d'arbres	Date de récolte	Etats des graines			
					TE (%) initiale	G (%) initiale	TE (%) actuelle	G (%) actuelle
Bénin	1 Tchakalakou	1339	30	30/4/94	9,73	52	11,6 \pm 0,6	2 \pm 0,7
Burkina Faso	2 Gaoua	1161	30	21/4/94	9,48	60	11,4 \pm 0,9	10 \pm 0,7
	3 Toeghin	1029	30	11/5/94	9,82	92	9,1 \pm 0,4	8 \pm 0,7
	4 Pama	1072	30	1/5/94	12,42	94	10,8 \pm 0,6	2 \pm 0,7
	5 Saponé	862	30	13/5/94	9,03	91	12,4 \pm 0,7	10 \pm 0,7
	6 Darsalamy	1022	30	19/4/94	9,35	93	13,6 \pm 0,8	2 \pm 0,7
Cameroun	7 Ngong	1169	22	20/4/94	9,27	92	12,3 \pm 0,2	42 \pm 2,1
	8 Wourouwaté	1169	26	22/4/94	9,86	96	11,2 \pm 0,4	0 \pm 0
Côte d'Ivoire	9 Minignan	1612	30	17/4/94	8,56	95	11,7 \pm 0,7	18 \pm 2,1
	10 Bawku-East	1072	30	5/5/94	19,14	78	12,1 \pm 0,6	38 \pm 2,1
	11 Dambai	1337	26	5/5/94	12,79	82	14,2 \pm 1,4	0 \pm 0
Guinée	12 Konkoure	2035	30	26/4/94	10,05	90	12,6 \pm 1,2	0 \pm 0
	13 Dabola 1	1963	24	20/4/94	8,84	97	14,1 \pm 1,0	4 \pm 1,4
Mali	14 Diomatene	1384	30	30/4/94	11,43	96	11,3 \pm 0,8	6 \pm 1,4
	15 Fourou	1225	30	25/4/94	10,36	71	10,5 \pm 1,1	12 \pm 1,4
	16 Nafégué	1384	30	2/5/94	9,31	95	12,5 \pm 1,1	2 \pm 0,7
Niger	17 Kaka Sakara	870	31	13/5/94	9,58	86	10,8 \pm 0,4	26 \pm 0,7
Nigeria	18 Kaduna	1300	30	20/4/94	11,27	47	10,1 \pm 0,2	0 \pm 0
	19 Auchi	1364	30	13/5/94	13,24	45	12,7 \pm 0,8	4 \pm 0
Sénégal	20 Simbandy	712	30	29/6/94	8,99	84	10,9 \pm 0,7	12 \pm 0
	21 Baria	536	30	13/6/94	13,42	92	13,4 \pm 0,3	14 \pm 2,1
Togo	22 Bafilo	1375	30	19/4/94	10,23	79	12,0 \pm 0,9	10 \pm 0,5
	23 Timbou	1072	30	27/4/94	10,05	91	9,8 \pm 1,3	48 \pm 2,8

Nous avons analysé la relation entre les taux de germination et les teneurs en eau de l'ensemble des lots, c'est-à-dire les graines des 23 populations sélectionnées et celles des 15 descendants de la population de Gaoua. Les résultats de cette analyse (Figure 4.3.) révèlent une pente négative de la régression linéaire: $Y = 87,80 - 6,31X$ ($R^2 = 0,30$). Pour les 11 ans de conservation, les graines qui ont fait l'objet d'un séchage approprié et conservées à une basse TE, maintiennent un bon taux de germination. Par contre, l'équation montre qu'aucune graine conservée avec une teneur en eau d'environ 14% ne germe.

4.3.3. Isothermes d'absorption d'eau des semences

L'implication importante de la teneur en eau sur la viabilité, nous a amené à examiner particulièrement les changements du contenu hydrique des graines en fonction des humidités relatives dans lesquelles elles se trouvent. A cet effet, les graines de *P. biglobosa* ont été mises dans des humidités relatives jusqu'à leur équilibre dans ces milieux à 30°C. La relation entre ces humidités relatives de l'air et la teneur en eau équilibrée des graines a ensuite été utilisée pour construire l'isotherme d'absorption d'eau de l'espèce (Figure 4.4). Les TE des graines comprises entre 7 et 8% (lots de 1 an), correspondent à des humidités relatives comprises entre 20 et 40%. Quant aux TE des graines comprises entre 10 et 13%, elles, correspondent à des HR situées entre 60 et 75%. Cette courbe permet donc de sécher les graines à une TE précise et spécifique pour une HR particulière.

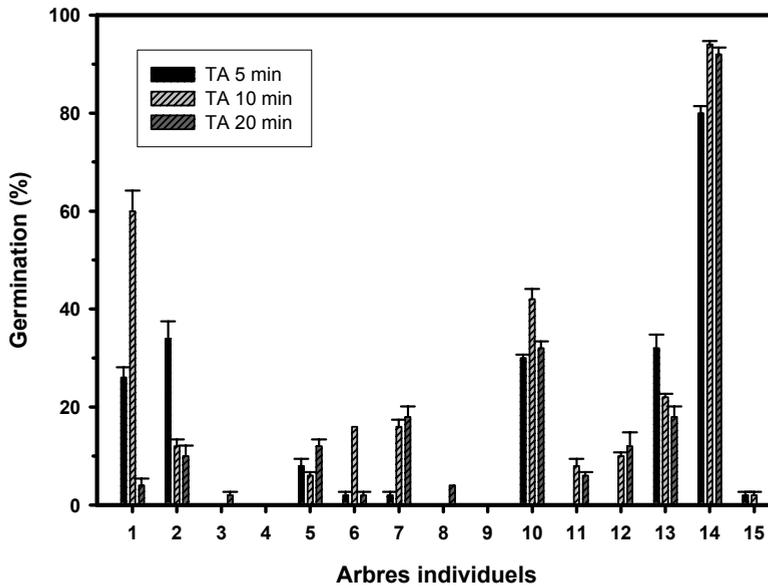


Figure 4.2. Résultats des taux de germination actuelle des graines de 15 descendants de la population de Gaoua récoltées en 1994 et conservées à 4°C dans la chambre froide du CNSF. Les graines ont été prétraitées pendant 5, 10 et 20 min, par scarification à l'acide sulfurique. Les données sont des moyennes des pourcentages de germination.

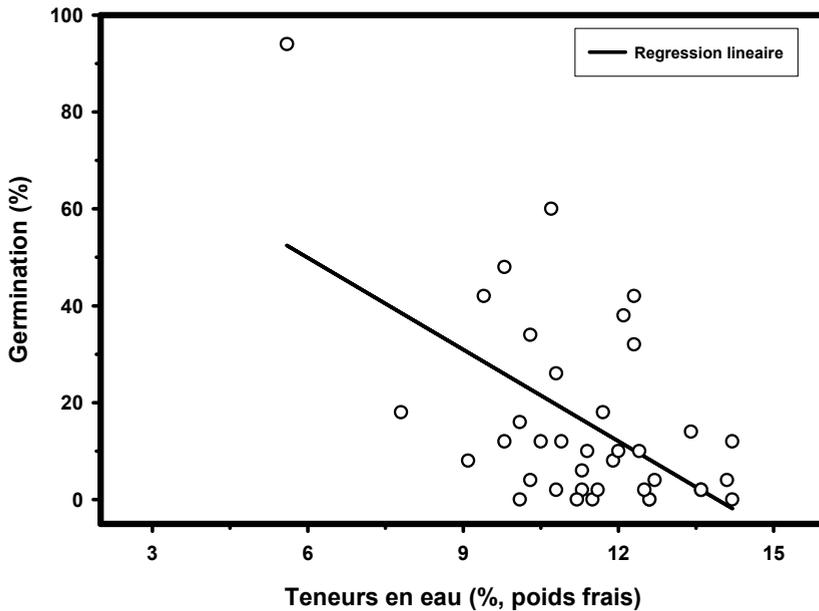


Figure 4.3. Résultats des meilleurs taux de germination actuelle des graines de *Parkia biglobosa* des populations sélectionnées, présentés en fonction de leurs teneurs en eau. L'équation de la régression linéaire ($Y = 87,80 - 6,31X$; $R^2 = 0,30$) montre qu'aucune graine ne germe autour de 14% TE.

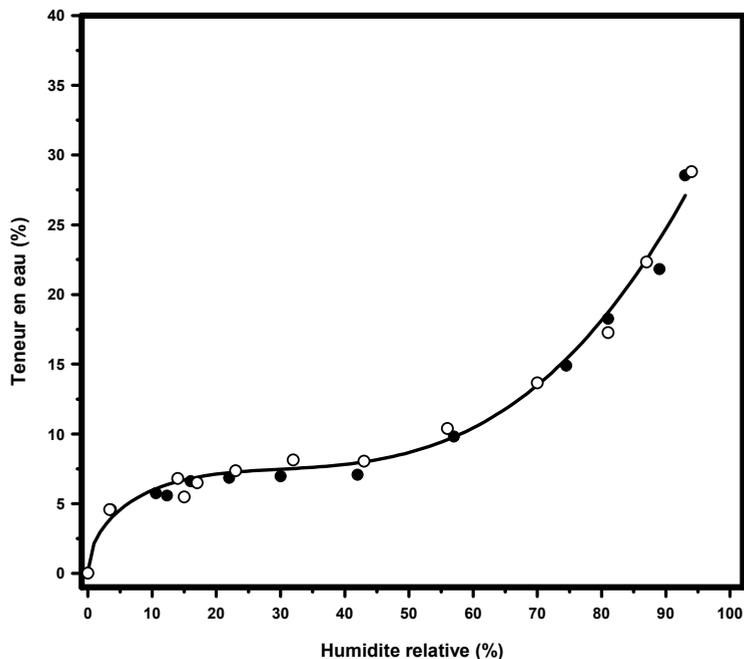


Figure 4.4. Isotherme d'absorption de *Parkia biglobosa* mesuré en deux séries (symboles ouverts et fermés) à 30°C. Chaque point est une moyenne de 4 répétitions et les coefficients de variations par mesure sont inférieurs à 5%.

4.4. Discussion

La conservation *ex situ* à long terme et la germination optimale des graines de *P. biglobosa* sont très importantes pour la préservation des ressources phylogénétiques de l'espèce. Nos investigations ont donc porté sur l'analyse des conditions actuelles de conservation des différents lots en stocks au CNSF, l'identification des optima de prétraitement pour leur germination et des paramètres à prendre en compte pour leur bonne conservation. La viabilité des différents lots de *P. biglobosa*, a été déterminée sur la base de leur pourcentage de germination. Les graines fraîches de *P. biglobosa* germent généralement très bien entre 90-100%, et la germination débute 4 jours après le semis.

Les écarts de temps de prétraitement (1 min) appliqués dans l'identification des conditions optimums ont été choisis faibles afin de pouvoir détecter de petites variations de leur effet sur la germination. Les résultats ont montré que le prétraitement témoin de 10 minutes de trempage dans l'acide sulfurique, qui est l'optimum de prétraitement recommandé par le CNSF, demeure valable pour tous ces lots de graines de *P. biglobosa* en conservation de 1 à 20 ans. Des résultats similaires ont été obtenus pour deux autres Légumineuses, *Acacia senegal* et *Faidherbia albida* (Oubida 2005), pour lesquelles les prétraitements préconisés (trempage dans l'acide pendant 1 min et 5 min, respectivement) demeurent les prétraitements optima quelle que soit la durée de conservation entre 0 et 20 ans. Cependant, l'étude du prétraitement des lots de graines conservées de *Adansonia digitata* a montré des différences significatives entre les résultats des prétraitements d'un lot à l'autre (Clethero, 2002). Ces graines très dures sont pourtant orthodoxes (Danthu et al. 1995), mais la scarification est plus réduite et facile pour les graines conservées, comparée à celles nouvellement récoltées. Les taux de germination des graines en état de conservation se réduisent si

on leur applique la même durée de prétraitement que chez les graines fraîches. L'observation importante est que cela se produit uniquement chez les graines qui n'ont pas été convenablement séchées, et donc qui ont été conservées avec une TE élevée ($\geq 10\%$). Nous avons également observé lors de la scarification des semences des lots de 20 ans de *P. biglobosa*, qui avaient par ailleurs perdu beaucoup de leur viabilité, que leurs téguments étaient moins fermes que ceux des lots d'un an (Figure 4.1). Cela s'explique en partie par l'effet des contenus hydriques élevés de ces graines (11-13% TE).

La teneur en eau recommandée pour la conservation à long terme en chambre froide des semences étant de 5 % (FAO/IPGRI 1994), ceci correspond en moyenne à une humidité relative d'environ 10% chez *P. biglobosa*. Pour cette espèce, l'humidité relative de la chambre froide à 70-75 %, correspondrait à une TE de 13% (Figure 4.3). La variation des teneurs en eau des semences conservées à 4°C au CNSF s'explique par l'ouverture quasi quotidienne des conteneurs lors des prélèvements de semences, effectués dans la chambre froide à plus de 75% HR, sans précautions spéciales. A cause de la porosité partielle des téguments, le rééquilibrage des graines de *P. biglobosa* dans cette humidité relative entraîne subséquemment une élévation de la TE. Ces graines subissent une réduction de leur viabilité, quoiqu'elles puissent avoir une longévité importante si elles sont séchées et conservées convenablement dans des conteneurs hermétiques. Dans notre présente étude, les graines d'un seul arbre de la population de Gaoua au Burkina Faso, ont été séchées suivant les normes à environ 5% TE, ont maintenu cette TE pendant la durée (11 ans) de leur conservation et ont germé à un taux de 95% (Figure 4.2). Par conséquent, il importe d'observer les précautions suivantes en vue de préserver la viabilité des semences dans le temps: (i) sortir le bocal ou le sachet concerné de la chambre froide et de le garder dans les conditions ambiantes du laboratoire pendant 24 h; (ii) ouvrir le bocal après les 24 h afin de prélever la quantité de graines désirée; (iii) placer ensuite le bocal ouvert dans l'incubateur-dessiccateur (10-15% HR) pendant 24 h; et (iv) fermer ensuite le bocal et le replacer dans la chambre froide. On pourrait insérer un sachet de gel de silice, utilisé comme un indicateur coloré de changement de la teneur en eau dans le bocal.

La graine de *P. biglobosa* survit à la dessiccation jusqu'à une teneur en eau inférieure à 5% et est capable de germer après séchage à 90-100%. Dans cet état sec, le métabolisme est fortement ralenti, voire absent. Les raisons pour lesquelles la dessiccation n'entraîne pas une mort directe mais plutôt lente et progressive ont été largement étudiées (Hoekstra et al. 2001, Sacandé 2000, Buitink 2000). Les recherches visant à mieux comprendre les relations entre les propriétés physiques des graines à faible TE et leur aptitude à la conservation sont au centre des préoccupations des professionnels des semences. Ces recherches ont pu apporter des informations utiles aux producteurs de semences et aux gestionnaires de banque de germoplasme dont l'activité essentielle est de maintenir la diversité biologique et génétique aussi longtemps que possible. La détérioration des embryons pendant le stockage constitue un obstacle majeur en vue de l'obtention de semences vigoureuses. On devrait pouvoir conserver les graines de *P. biglobosa* pendant des décennies à 4°C en chambre froide. Cependant, nos résultats ont révélé que la plus part des lots conservés avaient de fortes teneurs en eau (Tableau 4.2; Figure 4.3), deux fois plus élevées que la teneur en eau standard de 5% recommandée par l'IPGRI et la FAO (1994) pour une conservation à long terme des ressources forestières génétiques, ce qui a accéléré la perte de viabilité des graines. En effet, l'eau et la température déterminent de manière interactive la longévité des graines orthodoxes (Vertucci & Roos 1993, Sacandé 2000, Buitink 2000). Un des modèles développés afin de relier la cinétique de détérioration des graines pendant le stockage aux propriétés physiques de l'eau cytosolique, suggère qu'une graine sèche peut se conserver indéfiniment car son cytoplasme se présente sous forme d'état vitreux (Leopold et al. 1994). Un état vitreux possède une viscosité telle que les réactions induisant la détérioration progressive des semences sont très fortement ralenties, voire absentes. L'état vitreux (liquide figé) ressemble à un solide mais garde les propriétés physiques d'un liquide, amorphe et métastable (Walters 1998). La viscosité du cytosol a une relation directe avec la perte en eau et joue un rôle important dans la conservation des semences. Selon Harrington (1960), pour toute réduction de 1% de la teneur en eau des semences durant le séchage et pour une teneur en eau

comprise entre 5 et 14%, il en résulte un doublement de la longévité de ces semences (voir Figure 4.4). En outre, à chaque fois que la température de stockage est diminuée de 5°C, la longévité des semences se trouve également doublée (Harrington 1973). Une teneur en eau élevée entraîne une intensité respiratoire et des phénomènes métaboliques élevés, entraînant une utilisation rapide des substances emmagasinées qui se réduisent, d'où l'aboutissement rapide à la détérioration des semences. La température est un facteur important qui affecte la longévité des semences durant la conservation. Plus la température est basse, plus le taux de respiration est faible, et plus les semences se conservent longtemps (FAO, 1992).

La conservation des semences a pour but de maintenir leurs qualités physiologiques, génétiques et sanitaires initiales jusqu'au moment où elles peuvent être régénérées. La conservation des semences permet ainsi de palier aux éventuels déficits causés par des années de production médiocre ou nulle, de permettre des échanges de graines au niveaux régionaux et internationaux dans le cadre des activités commerciales et/ou de recherche scientifique, de conserver les ressources génétiques floristiques et la biodiversité des espèces. Le maintien de la longévité des graines en conservation est meilleur pour les graines mûres, comparées aux graines immatures (Sacandé et al. 1998, Hay & Smith 2003). Mais ce problème ne se pose pas pour *P. biglobosa* pour lequel l'indice de maturité est l'assèchement des gousses, le jaunissement de la pulpe et son goût sucré. Les résultats de viabilité actuelle des graines des populations que nous avons sélectionnées ne sont pas satisfaisants. Plusieurs erreurs ont dû entacher la manutention de ces semences et il en résulte des taux moyens de germination inférieurs à 20% (Tableau 4.2). Au vu des efforts et des moyens investis dans la collecte de ce matériel, une attention particulière doit être accordée à sa préservation. Ceci doit toujours servir de matériel de référence et le CNSF a le devoir d'en assurer la conservation au profit de toute l'Afrique de l'Ouest.

En général on constate une grande évolution des connaissances sur la physiologie et les conditions de conservation des semences ces deux dernières décennies, mais beaucoup restent encore à découvrir. Des études antérieures sur les conditions optimales de conservation des semences orthodoxes au CNSF indiquait en 1985 que ces conditions permettraient d'atteindre des taux de germination de plus de 70% et plus au bout de 10 ans. Malheureusement toutes les études menées dans ce sens n'ont pas été suivies d'un programme de mise en pratique de ces résultats si bien que l'on constate que les semences conservées au CNSF ont une longévité plus faible qu'attendue. En effet, une étude récente (Clethero, 2002) a montré que les semences conservées au Royal Botanic Gardens, Kew, au Royaume Uni, avaient une plus grande longévité que celles conservées au CNSF. La collaboration technique et scientifique existante entre le RBG Kew et le CNSF depuis 2000, a permis d'approvisionner le CNSF en équipements nécessaires pour tester et mieux contrôler ses collections en conservation. Cette initiative vise globalement à permettre la collecte et la conservation de graines d'environ un quart de la flore nationale du Burkina Faso. En plus, le personnel du CNSF a bénéficié de formation en matière de physiologie et de conservation des semences afin de mieux entreprendre des activités de recherche sur les espèces prioritaires du Burkina Faso. L'amélioration des conditions de conservation des semences au CNSF assurera le maintien de la longévité optimale des semences, ce qui contribuera à une meilleure conservation des ressources génétiques forestières.

5- Conclusion générale



Chapitre 5

CONCLUSION GENERALE

Parkia biglobosa est une espèce typique des parcs arborés, répandue dans la savane soudanienne et soudano-sahélienne, depuis le Sénégal à l'Ouest jusqu'en Ouganda à l'Est. Espèce à fonctions multiples, elle contribue au développement socio-économique des communautés locales en Afrique de l'Ouest (Hopkins 1983, Bonkougou 1987, Ki 1994; Ouédraogo 1995, Hall et al. 1997). Sous les effets conjugués de la pression démographique et des aléas climatiques, de nombreux parcs à néré se caractérisent aujourd'hui par un vieillissement des arbres, une absence de régénération et un état de dégradation continu. Paradoxalement les parcs agroforestiers doivent répondre aux demandes de plus en plus pressantes des communautés locales en produits ligneux et non ligneux (Yossi & Kouyaté 2001). La solution à ce dilemme passe par la mise en œuvre d'actions concertées entre les communautés locales, les structures techniques et l'institution politique, en vue d'une meilleure conservation et utilisation des ressources des parcs.

Cependant, « la préservation et l'utilisation durable de la biodiversité exigent des données, des informations et des connaissances complètes. Malheureusement, les difficultés d'accès à l'information limitent notre capacité de planifier et de mettre en œuvre efficacement les stratégies de conservation » (UICN 2004).

Nous discutons ici la contribution des facteurs biologiques à la définition d'une stratégie appropriée de conservation des ressources génétiques de *Parkia biglobosa*. En effet, l'analyse des paramètres génétiques et physiologiques (voir Chapitres 2, 3 et 4) a révélé un niveau élevé de diversité génétique en relation avec les activités anthropiques et la biologie de la reproduction de l'espèce. On peut alors se demander: Quelles sont les implications possibles de ces données pour la conservation des ressources génétiques de l'espèce? Quelle stratégie développer en vue de capturer un maximum de variation génétique pour les besoins d'une conservation à long terme? Quelle approche adopter? Quelle est la taille de l'échantillon approprié? Quelles en sont les retombées possibles pour les systèmes nationaux de semences forestières d'Afrique de l'Ouest en général et pour le CNSF du Burkina Faso en particulier? Nous tentons d'apporter des réponses à ces questions dans les paragraphes qui suivent.

5.1. Conservation des ressources génétiques de *Parkia biglobosa*

Les principaux objectifs attendus de la conservation des ressources génétiques d'une espèce sont (i) d'assurer le maintien de la variation génétique présente au sein de l'espèce; (ii) de piéger la variation nécessaire pour répondre aux changements futurs de l'environnement; (iii) d'assurer les processus évolutifs en cours, tels que le flux de gènes et la sélection naturelle, tout en minimisant la dérive génétique. Deux méthodes de conservation sont bien connues, à savoir la conservation *in situ* et la conservation *ex situ*. La conservation *in situ* consiste à maintenir les espèces menacées dans le milieu où elles ont développé leurs caractères distinctifs, de façon naturelle. Seule cette méthode est en mesure de garantir une adaptation continue aux conditions locales, même si celles-ci viennent à se modifier dans des limites compatibles avec la survie de l'espèce (évolution des facteurs physico-chimiques de l'environnement, réchauffement et pollution de l'atmosphère, modification rapide du paysage phytosanitaire). Les inconvénients ici sont que sans protection et suivi, les espèces sous conservation *in situ* sont vulnérables et peuvent subir des dégradations humaines et animales, conduisant ainsi au recul des ressources génétiques. En effet, les menaces qui pèsent sur la diversité de nombreuses espèces, incluant une utilisation excessive des ressources, la dégradation des peuplements et la perte d'habitat, condamnent certaines d'entre elles à la disparition si des mesures ne sont pas prises en dehors de la préservation *in situ*.

La conservation *ex situ*, elle, consiste à préserver les ressources génétiques hors de leur habitat naturel. Suivant les propriétés de la ressource, celle-ci sera conservée dans une banque de gènes, de graines (Linington & Pritchard 2001), un arboretum, une collection plantée dans un champ spécifique, ou *in vitro* sous la forme d'embryons. Le principal inconvénient de cette méthode est la mise à l'écart de son habitat naturel. L'espèce ainsi conservée *ex situ* n'évolue plus sous la pression de l'environnement et pourrait devenir incapable de résister par exemple à des parasites qui, eux, auront continué d'évoluer naturellement pour survivre. Les lots régénérés peuvent fixer des mutations délétères par le simple fait du hasard, ce qui peut nuire considérablement au matériel conservé en collection (Schoen et al. 1998). Un autre inconvénient de la méthode, c'est que la plante conservée *ex situ* se trouve à la merci de l'activité humaine qui la maintient en vie (coupures de courant ou de crédits, défauts d'étiquetage, restrictions de personnel, etc.). La conservation *ex situ* "à la ferme" ou "au champ" qui constitue un intermédiaire entre la conservation *in situ* et la conservation *ex situ, stricto sensu*, permet de conserver des variétés cultivées sur pied dans leur région et leur système de culture d'origine, ce qui les laisse subir les contraintes du milieu.

Ces deux méthodes ne sont pas incompatibles et peuvent être utilisées de façon complémentaire, ce qui atténue les inconvénients de l'une ou l'autre approche. La situation idéale serait de mettre en place parallèlement ces deux types de conservation pour garantir le maintien de la diversité et la survie des espèces. Cependant, compte tenu de la limitation des moyens et des infrastructures, il est souvent opéré un choix. Le choix de la méthode à appliquer sera essentiellement fonction de l'état de la ressource à préserver. Quelle que soit l'approche qui sera privilégiée, la conservation ne doit pas être considérée comme une tentative de préserver une ressource définie et immuable, les ressources génétiques elles-mêmes et leur conservation étant essentiellement dynamique (FAO 1994).

Les paramètres de la biologie de la reproduction (Chapitre 2) et de la diversité génétique (Chapitre 3) ont constitué les outils de base pour orienter l'identification des populations qui vont nous permettre de conserver un bon potentiel évolutif de *Parkia biglobosa*. Les marqueurs isoenzymatiques seuls n'étant pas représentatifs de la variation des caractères quantitatifs, particulièrement ceux sensibles à la sélection naturelle, le développement et la mise en œuvre d'une stratégie efficiente de gestion durable des ressources génétiques d'une espèce requerront également la connaissance de plusieurs autres paramètres physiologiques (Chapitre 4), socio-économiques et culturels. Les caractéristiques de l'histoire d'une espèce et la manière dont elle est affectée par les interactions biotiques et abiotiques, de même que les menaces qui peuvent peser sur elle, déterminent sa capacité d'adaptation. En effet, le degré d'adaptation des organismes à leur environnement est déterminé par l'équilibre entre spécialisation locale en réponse aux régimes locaux de sélection et différents mécanismes de brassage génétique. La spécialisation locale résulte d'une multitude de facteurs dont l'environnement ainsi que tous les aspects sociologiques ou économiques. Ainsi, en plus des paramètres génétiques et physiologiques, nous examinerons également les caractéristiques éco-géographiques et les facteurs anthropiques dans le cadre de la formulation d'une stratégie appropriée de conservation de *P. biglobosa*. A cet effet un échantillon représentatif de populations et d'arbres de même que le mode de conservation appropriés seront déterminés.

5.1.1. Echantillonnage en vue de la récolte de graines destinées à la conservation ex-situ

L'échantillonnage est une étape cruciale dans la conservation et l'utilisation des ressources génétiques forestières. Aussi, Brown & Hardner (2000) recommandent d'éviter 3 pièges, notamment (i) un échantillon trop limité, qui ne couvrirait pas la variation existante au sein de la population; (ii) un échantillon biaisé soit au niveau de la population soit au niveau des individus avec le risque d'omission de certaines variantes; (iii) un échantillon trop grand et difficile à gérer, occasionnant une perte d'énergie et d'argent. Nous analysons alors l'ensemble de nos résultats en considérant ces recommandations.

5.1.1.1. Paramètres génétiques

L'analyse du système de reproduction et l'évaluation du niveau de diversité et de la structure génétique ont révélé que d'une part *Parkia biglobosa* est une espèce majoritairement allogame (t_m varie de 0,873 à 1,001), imputable à des facteurs génétiques (système d'auto-incompatibilité, protandrie) et environnementaux (synchronisme floral des arbres reproducteurs, densité relativement élevée), et que d'autre part, elle possède une forte diversité génétique ($A = 4,13$; $H_e = 0,34$; $P = 100\%$) principalement d'origine intra population. Ainsi la différenciation génétique entre populations est assez faible ($F_{st} = 0,13$), ce qui se traduit par un flux de gène relativement élevé ($N_m = 1,61$).

Les critères génétiques sont d'une grande importance pour l'identification des populations qui méritent d'être conservées en priorité au sein d'une espèce donnée. En effet, parce que toutes les populations n'ont pas les mêmes capacités de réponse aux changements futurs des conditions de l'environnement, les données génétiques pourraient garantir une meilleure utilisation des ressources disponibles en maximisant le potentiel de réponse adaptative des populations conservées (Petit et al. 1998). Plusieurs critères d'échantillonnage ont été développés, basés sur la richesse allélique (Marshall & Brown 1975, Brown & Briggs 1991), la différenciation génétique entre les populations (Hamrick et al. 1991), la richesse allélique associée à la divergence génétique (Petit et al. 1998), l'association de la différenciation génétique entre les populations et de l'histoire des populations (Center for Plant Conservation 1991) ou encore la combinaison de tous les paramètres de diversité (nombre d'allèles, polymorphisme, hétérozygotie) (Neel & Ellstrand 2003). La plupart des auteurs reconnaissent la pertinence de la richesse allélique comme mesure de la diversité, en particulier dans le contexte de la conservation génétique. En général, la composition allélique initiale détermine les limites de la réponse à la sélection à travers les générations, alors que la réponse de l'espèce à une sélection immédiate est liée à l'hétérozygotie attendue. La richesse allélique est un caractère qui régit la capacité des organismes à réagir à des changements de milieu. En outre elle est très fortement dépendante de la taille effective des populations, ce qui n'est pas le cas de l'hétérozygotie (Petit et al. 1998). Marshall & Brown (1975) considèrent que le nombre moyen d'allèles par locus constitue la mesure la plus simple et la moins ambiguë de la diversité génétique pour la conservation des ressources génétiques. Quant à la différenciation génétique, son utilisation comporte des limites car pour les espèces présentant des valeurs élevées de ce paramètre, elles auront à la fois certaines populations avec des niveaux élevés de diversité génétique et d'autres avec des faibles niveaux, ce qui rend difficile la détermination des populations qui maintiennent le plus de diversité (Schoen & Brown 1991).

Le nombre de populations nécessaires pour assurer la conservation de la diversité génétique d'une espèce dépendra donc du paramètre de diversité retenu, de la manière dont cette diversité est structurée au sein et entre les populations et de quel niveau de diversité totale est jugé suffisant (Neel & Cummings 2003). En l'absence de données sur la diversité génétique comme c'est souvent le cas, la taille de l'échantillon recommandé doit être suffisante pour inclure au moins une copie de 95% des allèles présents dans une population visée, à une fréquence supérieure à 0,05. Ceci correspond à un échantillon aléatoire de 59 gamètes non apparentés. Ce nombre de référence est atteint en échantillonnant 30 individus par population pour les espèces à système de reproduction mixte et 60 pour les espèces autogames (Marshall & Brown 1975, Brown & Hardner 2000, Schoen & Brown 2001). Brown & Briggs (1991) et le Center for Plant Conservation (1991), l'institution américaine pour la protection de la flore américaine, recommandent pour une espèce donnée un minimum de 5 populations et de 10 à 50 individus par population. La marge génétique « bénéficiaire » due à l'échantillonnage d'individus ou de populations additionnels, décroît rapidement après les 5 premières populations ou les 10 premiers individus. Brown & Briggs (1991) considèrent que les 10 premiers individus échantillonnés dans une population sont aussi importants sinon plus importants que les 90 individus additionnels en terme de gain génétique. Une recommandation très controversée est celle de Lawrence et al. (1995) qui considèrent que 172 arbres échantillonnés de façon aléatoire suffisent à conserver la diversité génétique au sein de toute

espèce. En général une distance de 100 m à 300 m est recommandée entre les arbres-mères pour éviter de récolter sur des arbres apparentés, ce qui entraînerait un rétrécissement de la variation échantillonnée (Palmberg 1985).

En considérant l'ensemble des critères présentés ci-dessus, nous avons estimé pertinent de privilégier le critère de la richesse allélique pour orienter le choix des populations à conserver. En outre, parmi les populations qui auront été retenues pour leur richesse allélique, nous sélectionnerons celles présentant en plus les taux d'hétérozygotie les plus élevés. La sélection de populations présentant une diversité élevée pour plusieurs paramètres est estimée efficace pour piéger la diversité génétique et réduire les niveaux de consanguinité. Ces populations présentent des caractéristiques d'adaptation aux conditions actuelles et un potentiel d'adaptation aux changements futurs du milieu (Neel & Ellstrand 2003).

Notre critère de détermination de la richesse allélique s'est fait sur la base de la classification de Marshall & Brown (1975) qui distinguent 4 classes d'allèles selon leur fréquence (commun ou rare) et leur distribution intra et inter-population (répandu ou local). La Classe 1 comporte les allèles « commun, répandu ». La capture de cette classe d'allèles ne pose pas de problème particulier. Ces allèles seront inévitablement piégés quelle que soit la stratégie adoptée. Les allèles « commun, local » sont de la Classe 2. Il s'agit d'allèles qu'on trouve dans une population à une fréquence relativement importante et qui sont très rares dans plusieurs autres populations. Les allèles de cette classe méritent le plus d'attention car ils confèrent une adaptation spécifique aux conditions locales. La Classe 3 comprend les allèles « rare, répandu ». Ces allèles sont rares, mais répandus dans plusieurs populations. Leur capture dépendra de l'effort général de collecte. Et enfin la Classe 4 pour les allèles « rare, local », qui sont extrêmement difficiles à capturer. Brown & Briggs (1991) considèrent que ce type d'allèles est important pour l'amélioration génétique mais présente un intérêt limité pour la conservation. On pourrait les considérer à condition que leur fréquence soit au moins égale à 0,05 (Holsinger & Gottlieb 1991). Certains auteurs comme Huenneke (1991) considère en revanche que les allèles rares ont une importance du point de vue de l'adaptation et de l'évolution de l'espèce et devraient être échantillonnés.

Nous considérons qu'un allèle est rare quand sa fréquence est toujours inférieure à 0,10 et il est dit commun quand sa fréquence est supérieure à 0,10 au moins une fois. Il est considéré répandu quand il est distribué dans au moins 10 populations et est local quand on ne le trouve que dans moins de 10 populations. En appliquant cette classification aux 64 populations analysées (voir Tableau 3.2, Chapitre 3), nous mettons en évidence plusieurs catégories de populations selon leur richesse allélique (Tableau 5.1). On distingue en effet des populations dans lesquelles les locus n'exhibent que des allèles de la Classe 1 (commun, répandu) et des populations avec 1 à 5 des 6 locus polymorphes qui, en plus des allèles « commun, répandu », exhibent les autres types d'allèles (« rare et répandu » et pour le locus *Skd* et *Acp4* « rare et local »). Il est à noter l'inexistence des allèles « commun, local », les allèles présentant une distribution locale étant toujours rares.

En considérant uniquement les populations avec au moins 3 locus exhibant les différents types d'allèles, 14 populations (voir Tableau 5.1) méritent d'être retenues pour la conservation. Les 14 populations proviennent de toute l'aire de distribution de l'espèce avec une meilleure représentation des populations du Ghana (2 populations), de Guinée (2 populations), du Sénégal (2 populations) et surtout du Togo (3 populations). Les populations du Togo figurent par ailleurs parmi les populations présentant les taux d'hétérozygotie les plus élevés de l'espèce. Cinq populations du Burkina Faso, du Bénin, du Cameroun, de la Côte d'Ivoire et du Nigeria possédant également un niveau important de richesse allélique sont sélectionnées.

L'examen des paramètres de la diversité génétique de ces 14 populations indique que plusieurs d'entre elles présentent en outre des taux d'hétérozygotie attendue parmi les plus élevés (Figure 5.1). Une comparaison de la répartition du nombre moyen d'allèles par locus avec la répartition du taux d'hétérozygotie dans les 64 populations analysées montre en effet que globalement les populations ayant un nombre moyen d'allèles par locus élevé ont tendance à

exhiber les plus forts taux d'hétérozygotie (Figure 5.1), ce qui laisse supposer un certain niveau de corrélation entre les 2 paramètres.

Comme nous l'avons suggéré au Chapitre 3, *P. biglobosa* a connu une évolution sans goulot d'étranglement, ce qui expliquerait en partie le niveau élevé des paramètres de diversité génétique. En effet, Nei et al. (1975) démontrent que pour les espèces ayant subi des goulots d'étranglement, les effets s'accompagnent entre autres d'une réduction du niveau d'hétérozygotie qui ne pourra être recouvré qu'au bout de centaines de milliers d'années, et d'une réduction du nombre d'allèles par locus, encore plus drastique que celle de l'hétérozygotie. La valeur numérique de l'hétérozygotie dépend du nombre de locus polymorphes et de la structure génotypique pour chacun d'eux. Pour un locus donné, la valeur de l'hétérozygotie est maximum lorsque la fréquence des allèles est identique et s'accroît avec le nombre d'allèles, ce maximum étant de $(n-1)/n$ pour n allèles. Si un fort taux d'hétérozygotie tout seul, n'est pas forcément synonyme de diversité génétique élevée, une population exhibant un niveau élevé de diversité génétique comportera de nombreux allèles et aura généralement un taux élevé d'hétérozygotie.

Tableau 5.1. Richesse allélique des populations de *Parkia biglobosa*. L'examen des allèles de chaque locus a été fait pour toutes les 64 populations et seules 14 populations dans lesquelles au moins 3 locus exhibent les 3 catégories d'allèles, sont recommandées pour la conservation. Les croix indiquent que pour le locus considéré la population concernée possède en plus des allèles « commun, répandu », les autres classes d'allèles « rare et répandu » et « rare et local ». Le nombre total de locus pour lesquels chaque population exhibe les allèles ci-dessus est présenté dans la dernière colonne.

Populations	Aap2	Aap3	Acp3	Acp4	Pgd	Skd	Total
Kotopounga-Benin	+		+			+	3
Darsalamy-Burkina Faso	+		+	+		+	4
Wourouwate-Cameroun	+	+	+			+	4
Minignan-Côte d'Ivoire	+			+	+		3
Krachi-Ghana	+	+		+			3
Dambai-Ghana	+		+	+			3
Konkouré-Guinee	+	+	+		+	+	5
Dabola1-Guinee	+			+		+	3
Auchi-Nigeria	+		+	+	+		4
Dabo-Senegal			+		+	+	3
Baria-Senegal	+		+	+	+	+	5
Bafilo-Togo	+			+	+	+	4
Magnan-Togo		+	+			+	3
Konkouate-Togo		+				+	4

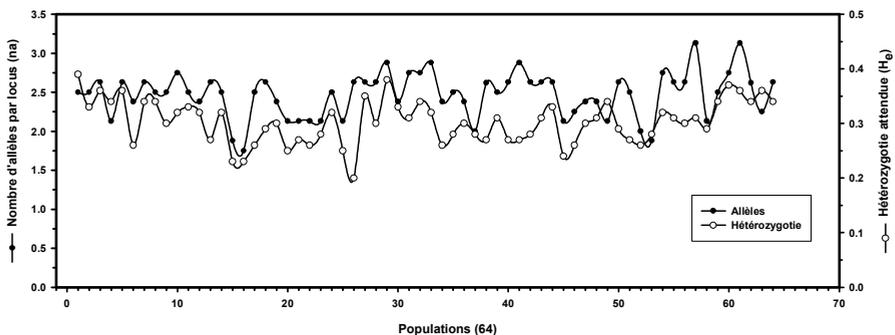


Figure 5.1. Comparaison de la répartition de la richesse allélique (nombre moyen d'allèles par locus, en symboles fermés) et de la répartition de l'hétérozygotie (en symboles ouverts) dans les 64 populations analysées.

5.1.1.2. Paramètres physiologiques des semences

Les tests de germination des semences de 23 populations (voir Chapitre 4) sélectionnées sur la base de leur diversité génétique ont établi que les taux de germination sont très faibles, voire nuls pour la plupart de ces populations. Seules les graines de quatre populations: Kaka Sakara (Niger), Bawku East (Ghana), Ngong (Cameroun) et Timbou (Togo) germent respectivement à 26, 38, 42 et 48%. L'analyse de quelques descendants de la population de Gaoua (Burkina Faso) a mis en évidence un taux de germination exceptionnel de 95% pour l'arbre 14.

Après une douzaine d'année de stockage en chambre froide, cette situation est le résultat d'une augmentation de la teneur en eau des semences, consécutive à leurs conditions de manipulation et de conservation peu appropriées. En effet seules les semences ayant maintenu une teneur en eau faible de l'ordre de 5% (arbre 14 de la population de Gaoua) présentent de bons taux de germination.

La viabilité des semences en conservation d'une population est primordiale dans la conservation ex-situ des ressources génétiques. De ce fait, le faible pourcentage actuel de germination des graines des populations de *P. biglobosa*, suggère que de nouvelles collectes soient plutôt organisées et que le matériel végétal soit conservé et manipulé suivant les recommandations décrites au Chapitre 4.

5.1.1.3. Paramètres éco-géographiques

Les facteurs éco-géographiques tels le climat, la topographie, les sols et l'isolation spatiale contribuent à modérer la variation génétique des espèces. Plusieurs études ont ainsi mis en évidence des différences génétiques entre des provenances de mêmes espèces (Ouédraogo 1986, Brown & Hardner 2000, Diallo et al. 2000, Teklehaimanot 2004b, Ræbild et al. 2003). Les données de nos investigations permettent de regrouper les 64 populations de *Parkia biglobosa* étudiées (voir Chapitre 3) en 3 catégories selon des critères essentiellement climatiques. (i) Les populations de la zone soudano-sahélienne caractérisée par une pluviométrie comprise entre 600 mm et 1300 mm, sont localisées au Burkina Faso, Mali, Niger, Sénégal et Tchad. L'état de la régénération de l'espèce est variable mais y est généralement faible ou inexistante. La densité des peuplements est assez importante. (ii) Les populations de la zone soudanienne où la pluviométrie varie entre 1000 mm et 1600 mm, sont réparties au Bénin, Cameroun, Côte d'Ivoire, Ghana, Nigeria et Togo. La densité y est importante et la régénération de l'espèce souvent compromise par certaines mauvaises pratiques dont la coupe des arbres. Ces deux zones constituent les zones de prédilection de l'espèce (Hopkins 1983). (iii) Les populations de la zone guinéenne avec entre 1900 mm et 3000 mm de pluie, se retrouvent en Centrafrique, Guinée, Sierra Leone et Ouganda. La densité y serait peu élevée et la régénération peu abondante. Sans que ces trois catégories de populations puissent être formellement identifiées comme des provenances, elles auraient peut-être acquis certaines aptitudes adaptées aux conditions climatiques et dont il convient de tenir compte pour orienter le choix des populations à préserver. La forte représentativité de l'espèce dans la zone soudanienne et la zone soudano-sahélienne en particulier suggère qu'un effort relativement plus important soit consenti pour l'échantillonnage des populations de ces deux zones. Environ trois quarts de l'échantillon global pourront logiquement y être retenus.

Par ailleurs, des essais comparatifs de 15 provenances de *Parkia biglobosa* de 11 pays réalisés dans la station expérimentale de Gonsé, en zone soudano-sahélienne au Burkina Faso, ont mis en évidence la supériorité des provenances du Burkina Faso (862 mm) et du Niger (870 mm), en raison de la similitude de leurs conditions climatiques avec celles de Gonsé (Teklehaimanot 2004b). De même l'étude de caractéristiques morphologiques (arbres, pédoncules, gousses, graines) de 57 populations de *Parkia biglobosa* échantillonnées dans 5 pays (Sénégal, Mali, Burkina Faso, Niger et Tchad) a révélé une variabilité morphologique importante au sein de l'espèce. La répartition de cette variabilité principalement d'origine intra-population, serait influencée en partie par la pluviométrie (Ouédraogo 1995).

Les performances des provenances sont donc liées à leur adaptation à certains types d'environnement. C'est ce qui explique que le repeuplement ou le reboisement de zones dégradées doit se faire préférentiellement avec des semences de la même origine ou d'origine géographiquement proche de la zone à reconstituer. En se basant sur la variation éco-géographique comme critère d'échantillonnage, cela permet de considérer des micro-habitats différents et de maximiser les chances d'avoir des génotypes uniques. Ceci traduit l'importance des paramètres éco-géographiques et la nécessité de considérer les provenances comme des unités de ressources génétiques dans le cadre de stratégie de collecte.

5.1.1.4. Paramètres anthropiques

Bien que les pratiques de gestion traditionnelle de *Parkia biglobosa* sur toute son aire de répartition n'aient pas été rapportées systématiquement avec les mêmes détails, il semble toutefois qu'en dépit de son importance socio-économique, l'espèce est en général soumise à de fortes pressions d'origines diverses. Cette situation est préoccupante dans certains cas où le besoin de renouvellement des arbres devenus vieux et moins productifs est assez pressant (Nikiéma 1993, Ouédraogo 1995, Hall et al. 1997, Shao 2002). Au Burkina Faso par exemple, l'espèce est classée vulnérable par le Ministère chargé des Forêts (MEE 1999). Les difficultés de régénération ont été répertoriées surtout dans la zone semi-aride à forte concentration humaine (centre du Burkina Faso, nord du Ghana) alors que certaines pratiques tendent plutôt à favoriser sa régénération dans d'autres zones à l'est et à l'ouest du Burkina, au Bénin, Centrafrique, Gambie, Mali, Niger et Nigéria. Ainsi par ses pratiques, l'Homme imprime une dynamique aux peuplements de *Parkia biglobosa* dont la densité est variable selon les zones. Selon les informations recueillies par le CNSF lors des missions de récolte, il semble que la densité des arbres est nettement plus importante dans la zone soudanienne que dans la zone guinéenne. En Guinée par exemple l'espèce y serait peu menacée mais les populations de néré seraient moins denses, peut être en raison d'une relative moindre importance de l'espèce dans cette zone. En considérant la densité comme un reflet de la qualité d'un écosystème, Gram & Sork (1999) suggèrent qu'elle peut être utilisée comme critère fiable d'identification de populations présentant des génotypes différents. Il apparaît donc que le niveau de menace est variable au sein d'une même zone et entre les différentes zones, les peuplements de la savane soudano-sahélienne, localisés dans les zones de forte concentration humaine étant les plus exposés: réduction de la période de jachère dans les parcs, absence de régénération, disparition d'arbres.

Sur la base de ces constats, nous suggérons qu'une attention particulière soit portée aux populations d'arbres des zones soudanienne et soudano-sahélienne, particulièrement dans les parties où l'état de dégradation de l'espèce est avéré. Il s'agit notamment du Nord Ghana, du Centre du Burkina, du Niger, du Sénégal. Au moins 75% des populations pourraient y être échantillonnées. Par ailleurs, l'échantillonnage de populations de la zone guinéenne (environ 25% de l'échantillon total) constituera une source additionnelle de variation.

5.1.2. Proposition d'une stratégie de conservation de *Parkia biglobosa*

Taille de l'échantillon et mode de conservation

L'analyse croisée des différentes catégories de paramètres nous permet de proposer l'échantillon « idéal » de populations susceptibles de capturer le maximum de variation existant au sein de *P. biglobosa* en vue d'assurer durablement sa conservation. Ainsi, nous retiendrons un échantillon de 11 populations réparties dans 9 pays, appartenant aux 3 zones climatiques, sélectionnées en fonction de leurs niveaux de richesse allélique et d'hétérozygotie, de leur état actuel, de leur dynamique de développement et de leurs caractéristiques physiologiques (voir Tableau 5.2). L'état de vulnérabilité de *P. biglobosa* dans son aire de distribution et l'importance socio-économique qu'elle revêt pour les communautés locales, commandent que les deux approches de conservation *in situ* et *ex situ* soient envisagées, et de préférence dans un cadre régional.

En effet, en raison des pressions anthropiques notamment et des effets de la sécheresse qui menacent l'espèce dans plusieurs pays, il est opportun que des récoltes de semences destinées à la conservation *ex situ* dans des banques de graines, soient organisées à un niveau régional dans les 11 populations échantillonnées. Une concertation et des échanges d'information et de matériel végétal entre les structures de conservation des pays respectifs s'avèrent alors nécessaires pour la mise en œuvre d'un tel projet. Par ailleurs, des récoltes nationales de semences en vue de conservation *ex situ*, réalisées au niveau de chaque pays, sur la base des paramètres du système de reproduction, de la structure génétique et de la physiologie de l'espèce, et des caractéristiques écologiques des sites, pourront être organisées pour autant qu'un minimum d'infrastructure et d'équipements appropriés et de ressources financières soient disponibles. En complément à la conservation *ex situ*, des efforts visant à assurer une préservation *in situ* de l'espèce devront être entrepris au niveau des différents pays par intérêts national et régional. Un réseau d'au moins une dizaine de populations par pays incluant celles déjà sélectionnées par la présente étude, conviendrait pour cette forme de conservation. En outre, un effort d'information et d'appui aux paysans devrait les aider à s'engager dans un processus de renouvellement des vieux parcs en favorisant la régénération naturelle et/ou la régénération artificielle. Le succès de la stratégie de conservation *in situ* dépendra principalement de l'adhésion et de la participation des communautés locales et d'un engagement effectif aux niveaux technique et politique.

Tableau 5.2. Onze populations « idéales » de *Parkia biglobosa* échantillonnées et sélectionnées pour la conservation des ressources génétiques au niveau régional, après une analyse combinée des paramètres génétiques, climatiques, anthropiques et physiologiques des données de la présente étude.

Pays	No	Populations	génétiques		Paramètres climatiques			anthropiques	
			A	He	z1	z2	z3	Ftp	Flp
Burkina	1	Saponé	2,50	0,30	+			+	
Burkina	2	Darsalamy	2,75	0,32	+				+
Cameroun	3	Wourou	2,63	0,29		+			+
Ghana	4	Dambai	2,75	0,34		+		+	
Guinée	5	Konkouré	2,88	0,32			+		+
Guinée	6	Dabola I	2,50	0,28			+		+
Mali	7	Nafégué	2,63	0,28	+				+
Niger	8	Kaka Sak	2,38	0,30	+			+	
Nigéria	9	Auchi	2,63	0,29		+		+	
Sénégal	10	Baria	3,13	0,31	+			+	
Togo	11	Bafilo	2,75	0,37		+		+	

5.2. Implications pour le système de récolte et les pratiques de conservation au CNSF

Comme décrit plus haut, les populations du Burkina Faso se situent dans de la zone soudano-sahélienne caractérisée par une pluviométrie comprise entre 600 et 1300 mm. Au niveau national, les peuplements de *P. biglobosa* dont la limite Nord se situe entre le 12° et le 13° degré de latitude nord, peuvent être réparties globalement dans 3 grandes « régions de provenances », en considérant d'une part sa répartition géographique (Maïga 1988) et d'autre part la subdivision phytogéographique du pays (Fontes & Guinko 1995).

La Région 1 correspondrait au secteur nord-soudanien où la pluviométrie se situe entre 600 et 800 mm, et qui compte le Centre, le Centre Est et l'Est du Burkina Faso. La densité moyenne des arbres varie entre 5 et 15 arbres à l'hectare et la régénération y est globalement faible à inexistante (Ouedraogo 1995). Cette région correspond à la plus vaste zone de distribution du néré dans le pays et représente au moins deux tiers de l'aire de distribution de l'espèce. La Région 2 regrouperait les

parties correspondant au secteur sud-soudanien où la pluviométrie se situe entre 900 et 1000 mm, à l'Ouest et au Sud-Ouest du pays. La densité y varie entre 10 et 15 arbres/ha et la régénération naturelle est très présente. La Région 3 se composerait essentiellement des provinces où la pluviométrie moyenne se situe autour de 1200 mm (Kéné Dougou, Léraba et Comoé) à la frontière avec la Côte d'Ivoire. La régénération y est forte par endroit et la densité des arbres peut atteindre 25 pieds à l'hectare.

Les récoltes de semences de néré destinées à la conservation *ex situ* devront s'organiser sur la base de cette structuration en vue de prendre en compte la variation écotypique de l'espèce au Burkina Faso. A cet effet, il serait convenable que l'échantillon se compose pour moitié environ de populations de la Région 1 et pour moitié des populations des 2 autres régions dont 30% pour la Région 2 et 20% pour la Région 3.



Figure 5.2. Répartition des 3 régions de récolte de *Parkia biglobosa* au Burkina Faso. Les semences devront provenir d'un échantillon représentatif constitué de 50% de populations de la Région 1, 30% pour la Région 2 et 20% pour la Région 3.

Récoltes de graines destinées aux besoins de reboisement et à la conservation *ex situ* à long terme

Les récoltes de semences destinées aux plantations dans le cadre des programmes de reboisement représentent l'essentiel des semences produites par le CNSF. Les quantités moyennes annuelles de graines récoltées s'élèvent à 4 tonnes. Un réseau d'un millier de peuplements d'une centaine d'espèces locales et exotiques est identifié à travers le pays par le CNSF pour ces activités de collectes régulières. Une équipe de chercheurs et de techniciens s'investissent dans la prospection des aires naturelles des espèces, la sélection et la cartographie des peuplements semenciers naturels des espèces, la collecte de graines et la gestion des peuplements semenciers. A ce titre, le CNSF déploie beaucoup d'énergie et mobilise des sommes d'argent considérables pour entreprendre notamment les récoltes dans les différents peuplements répartis à travers le pays. S'il est incontestable que la stratégie de décentralisation des opérations de récoltes à travers l'intervention des Antennes Régionale de Semences Forestières (ARSF) et des groupements de producteurs, a contribué à améliorer les performances du système de récolte du CNSF, il reste en revanche qu'en l'absence de données sur la biologie et l'organisation génétique de la quasi-totalité des espèces, il est techniquement impossible de définir pour les récoltes un nombre optimum de populations représentatives de chaque espèce.

Entre 1987 et 1994, seulement 60% des semences récoltées (25358 kg) ont été effectivement diffusées soit 15607 kg. En 1994, les 10 espèces les plus vendues ont représenté à elles seules plus de 70% de la diffusion totale des semences (de Kam & Nikiéma 1996). Pour ce qui concerne *Parkia biglobosa*, le CNSF dispose en ce moment en stock d'une centaine de provenances nationales pour un total d'environ 1000 kg de graines destinées principalement aux besoins de reboisement. Il est très probable que même si ceci obéit à une logique commerciale dont la pertinence reste à démontrer, les provenances des espèces et les quantités de semences disponibles peuvent s'avérer redondantes d'un point de vue génétique. En effet, la récolte de semences en vue de reboisement ou de conservation a un coût et il convient de trouver un équilibre entre le critère de satisfaction biologique et celui de l'utilisation efficiente des ressources généralement limitées (Falk 1991).

La question fondamentale qui se pose alors est de savoir quel nombre optimum de populations et d'arbres convient-il d'échantillonner de manière à pouvoir à la fois capturer le maximum de diversité et réduire les coûts de production. L'examen des résultats de nos travaux nous autorise à faire des propositions appropriées pour la collecte et la conservation des ressources génétiques de *Parkia biglobosa*, en vue d'améliorer certaines pratiques en cours depuis plusieurs années et dans plusieurs domaines.

Estimation du nombre de populations et d'arbres appropriés

L'analyse de la diversité génétique (Chapitre 3) a révélé des valeurs élevées des paramètres de diversité génétique de *Parkia biglobosa*. Les 7 populations du Burkina exhibent des taux d'hétérozygotie attendue (H_e) variant de 0,27 (Gaoua) à 0,34 (Pama et Toéghin), des valeurs du nombre moyen d'allèles par locus se situant entre 2,38 (Tiébélé) et 2,75 (Darsalamy) et des pourcentages de polymorphisme compris entre 75% (Pama) et 100% (Saponé et Darsalamy). En outre, 87 % de la variation génétique est d'origine intra-population, ce qui indique que la grande majorité de la composition génétique de l'espèce est présente dans une seule population. L'échantillonnage au niveau intra-population vise donc à piéger la variation génétique de base existant au sein de l'espèce. Compte tenu de ces paramètres et du fort taux d'allogécondation mis en évidence par l'analyse du système de reproduction (Chapitre 2), un nombre modéré d'arbres pourrait former un échantillon représentatif de la constitution génétique d'une population. Marshall & Brown (1975) suggèrent un échantillon n'excédant pas 50 à 100 arbre-mères car un tel échantillon aurait 95% de chance de capturer tous les allèles présents à une fréquence supérieure à 0,05. Brown & Briggs (1991) démontrent qu'en considérant la richesse allélique et l'hétérozygotie notamment, le nombre d'individus susceptibles de piéger la variation génétique d'une espèce varie entre 10 et 50 (correspondant en moyenne à 1000 graines) selon la taille de la population, les contraintes de la conservation et la théorie logarithmique qui établit une relation linéaire entre le nombre d'allèles et le logarithme de la taille de l'échantillon. La variation génétique utile augmenterait proportionnellement avec le logarithme de la taille et non avec la taille absolue de la population. Autrement dit, l'augmentation du nombre de populations ne s'accompagne pas d'un accroissement proportionnel de la variation génétique. Ceci veut dire donc qu'au-delà d'un certain nombre de populations ou d'individus, les efforts croissants d'échantillonnage ne s'accompagnent plus de gain génétique. Ce phénomène s'explique par la « loi des rendements non-proportionnels » ou « loi sur les rendements décroissants ». C'est en vertu de ce concept que Brown & Briggs (1991) ont proposé la stratégie d'échantillonnage d'un minimum de 5 populations par espèce et 10 individus par populations. Cette loi introduit une préoccupation fondamentale qui est celle de trouver le nécessaire équilibre entre le gain génétique et l'efficacité économique dans l'échantillonnage en vue de conservation ou de reboisement.

Tenant compte du niveau élevé des paramètres de diversité génétique intra-population, nous recommandons pour le cas de *Parkia biglobosa* au Burkina Faso, un échantillon de 15 individus par population pour les raisons supplémentaires suivantes: (i) la production de l'espèce étant régulière et généralement abondante, des récoltes destinées à renouveler les stocks en cas de besoin, sont possibles, (ii) le nombre de graines par kilogramme étant estimé à 5000 (Gaméné 1995, SID 2005),

la récolte sur 15 arbres suffira largement à atteindre les 1000 graines recommandées, (iii) les conditions pédo-climatiques étant généralement assez homogènes au sein d'une population, 15 arbres régulièrement répartis sur l'étendue de la population devront suffire à couvrir la variation existante. Ce nombre pourrait toutefois évoluer pour les récoltes destinées au reboisement, en fonction des besoins exprimés par les utilisateurs.

Le choix des individus qui conviennent le mieux devra se faire selon un échantillonnage systématique qui considère une grille ou des transects sur lesquels des individus régulièrement espacés sont choisis (Brown & Briggs 1991). L'échantillon ainsi prélevé provient de toute l'étendue de la population. Dans la mesure où la variation phénotypique est largement d'origine non génétique (Marshall & Brown 1975), la sélection des individus destinés à la conservation, basée sur des caractères comme la forme, la taille, etc, n'est pas vraiment recommandée. Toutefois, dans certains cas, ces caractères peuvent être pris en compte. L'expression phénotypique d'un génotype dépend des conditions environnementales dans lesquelles se sont développés les individus. Pour la plupart des caractères, le phénotype résulte des effets conjoints de 3 composantes: le génotype, l'environnement qui contribue toujours pour une part au phénotype et l'interaction entre le génotype et l'environnement. L'expression d'un gène n'est donc pas indépendante du milieu dans lequel ce gène s'exprime. Ainsi on sait qu'un individu de bonne qualité phénotypique possède un potentiel génétique de bonne performance. En revanche si le phénotype est mauvais, la cause n'est pas connue. En conséquence, dans les milieux relativement homogènes et peu perturbés, le choix de semenciers pour les besoins de plantations peut se faire sur la base du phénotype. En particulier les individus ayant des phénotypes exceptionnellement médiocres (mauvais état sanitaire, fût tordu, fourchu, ect.) devraient être évités.

Par ailleurs, la différenciation génétique étant relativement faible entre les populations ($F_{st} = 0,13$), la récolte dans un petit nombre de populations devrait également suffire à capturer le maximum de diversité répartie entre les populations de l'espèce. Avec seulement 13% de la variation génétique entre les populations, l'échantillonnage inter-population visera moins à piéger la variation génétique que la variation géographique et écotypique. Ainsi, même si cette différenciation est quantitativement faible, elle peut représenter un potentiel d'adaptation et d'évolution significatif. Le rendement génétique obtenu en augmentant le nombre de populations sera d'autant plus faible que la différenciation génétique entre les populations est faible (Falk 1991). Ce rendement se rétrécira au fur et à mesure de l'augmentation du nombre de populations échantillonnées. Ceci conduit à la constitution de « core collections » ou « collections noyau » qui sont des collections réduites mais conservant le plus de diversité.

Sur la base de ces considérations théoriques et de la division du pays en 3 « régions de provenances » décrites plus haut, la récolte de semences de néré destinées aux reboisements et à la conservation *ex situ* pourrait se faire valablement dans un minimum de 10 populations réparties de la manière suivante: 5 populations dans la Région 1; 3 populations dans la Région 2; et 2 populations dans la Région 3 (voir Figure 5.2). La sélection des populations dans chaque zone devra se faire sur la base des variations microclimatiques, édaphiques et des pressions diverses susceptibles d'affecter l'intégrité des populations. En considérant la nature des sols, l'état de la régénération et la pluviométrie, le choix pratique du CNSF pourrait se porter sur des populations du Plateau Central (une population), de la région du Mouhoun (une population), de la Tapoa (une population), du Gourma (une population) et du Boulgou (une population) pour la Région 1. Pour la Région 2, les populations du Houet (une population qui serait celle de Darsalamy), du Poni (une population) et de la Bouguiriba (une population) pourraient être retenues. Les populations de la Comoé (une population) et du Kéné Dougou (une population) pourraient représenter la Région 3. Ces populations pourront alors être gérées de commun accord avec les communautés riveraines. L'expérience du CNSF en matière de gestion participative des peuplements semenciers, entamée depuis 1998, a effectivement permis de responsabiliser des populations locales organisées en groupements pour la récolte des semences et le suivi de 20 peuplements semenciers répartis à travers le pays. Cette stratégie qui vise à assurer la conservation *in situ* et l'utilisation durable des

ressources des espèces sur la base d'avantages partagés pourra être très utilement appliquée à la gestion de *P. biglobosa*.

Mode de récolte préconisé sur l'arbre

Les valeurs des corrélations de paternité, estimés pour les populations de Bissighin et Nagaré sont élevées (rp varie de 0,299 à 0,502), traduisant un nombre réduit de donneurs de pollen pour chaque arbre-mère (Chapitre 2). Nous avons attribué ces estimations élevées à notre méthode de collecte des gousses. Nos récoltes ont porté en effet sur un nombre réduit de gousses (entre 5 et 20) prélevées sur un nombre très limité de capitules (1 à 4) provenant souvent de la même branche. Ce mode de récolte présente en outre l'inconvénient majeur d'introduire la possibilité de récolter des semences issues d'autofécondation. Tirant leçon de cette méthode peu appropriée, nous suggérons fortement que pour la récolte de *Parkia biglobosa*, les gousses soient prélevées sur toutes les parties du houppier et que les semences soient ensuite mélangées pour constituer un lot représentatif de l'arbre. En procédant de cette façon on obtiendrait des semences issues d'un large brassage génétique.

La période de récolte est également importante pour la constitution de l'échantillon. Les récoltes de néré organisées de façon précoce sur des individus « hâtifs » introduiront des biais dans la représentativité, la majorité des individus de la population n'ayant pas été impliqués dans la pollinisation. Il convient de récolter les semences à un moment où la majorité des arbres portent des fruits mûrs en abondance. Une bonne année de production de semences fournira un échantillon de semences qui représenteront plus complètement la population d'un point de vue génétique. Par ailleurs, la quantité de graines récoltées par arbre devra être identique, si l'on veut avoir une bonne représentativité de la diversité des différents arbres échantillonnés car la taille effective de la population échantillonnée correspondra à peu près au double du nombre d'arbres échantillonnés (Holsinger & Gottlieb 1991, Crow & Kimarou 1970). Contrairement aux semences destinées au reboisement, qui sont systématiquement mélangées par population pour en constituer un lot unique de ladite population, celles récoltées en vue de la conservation à long terme pourrait présenter l'avantage d'être maintenues par lots individualisés, ce qui permettrait une évaluation des descendants en cas de nécessité.

Distances à observer entre les arbre-mères pour la récolte

Les pratiques de récolte au CNSF ont toujours considéré 25 à 30 individus par population et une distance d'au moins 100 m entre les arbre-mères, appliquant ainsi une méthodologie conventionnelle recommandée par la FAO (Palmborg 1985). En l'absence de données sur la biologie des espèces, ce principe d'échantillonnage d'ordre général permet de capturer le maximum de variation génétique existant au sein des espèces. Toutefois, des études spécifiques sur la biologie et l'organisation génétique des espèces, comme celle conduite dans le présent travail, apportent des éléments plus précis sur les paramètres d'échantillonnage. Ainsi l'étude du système de reproduction dans les populations de Bissighin et de Nagaré, en révélant une différence faible entre les taux d'allofécondation multilocus et monolocus (tm-ts), traduit un faible apparentement entre les arbres dont les semences ont été analysées. Compte tenu des distances entre les arbres reproducteurs effectivement analysés, qui varient en moyenne entre 15 m et 90 m (Chapitre 2), il apparaît donc que la récolte de gousses de néré peut se faire en tenant peu compte de la distance entre les arbres dans ces deux populations. Cependant, au regard du faible nombre (2) de populations analysées, localisées par ailleurs dans la même zone et susceptibles d'avoir connu des évolutions similaires, et considérant que chaque peuplement a sa propre histoire, étroitement liée aux activités humaines, ce résultat ne pourrait être généralisé à l'ensemble de l'espèce. Il conviendrait parfaitement pour le CNSF de maintenir et de respecter pour l'instant le statut quo dans les peuplements non encore étudiés. Cette situation pourrait changer au fur et à mesure de la disponibilité des connaissances sur la diversité génétique et les facteurs microclimatiques et pédologiques des populations et des espèces. Il convient de noter que la récolte sur des individus suffisamment distants les uns des

autres présente l'avantage de prendre en compte dans l'échantillon la variation écotypique de la population considérée.

5.3. Schéma global des stratégies de conservation des espèces soudano-sahéliennes et soudaniennes

S'il est évident que les recommandations sur la conservation des ressources génétiques de *Parkia biglobosa* ne peuvent s'appliquer directement aux autres espèces de parcs agroforestiers en particulier et aux espèces forestières en général, il est cependant possible de faire des rapprochements ou des extrapolations sur la base de certaines considérations générales. La conservation des ressources génétiques des espèces soudano-sahéliennes est une préoccupation capitale qui a conduit les différents Etats à développer de nombreux programmes et projets de protection des écosystèmes et des habitats naturels, notamment dans le cadre de la Convention sur la Diversité Biologique, en vue de contribuer à la conservation de la diversité biologique. Cette forme de conservation protège et perpétue l'intégrité des pools de gène et les relations co-évolutives. Les arbres, les populations et les espèces inter-agissent harmonieusement les uns avec les autres, et s'adaptent à l'évolution de l'environnement. Ces mesures de préservation *in situ* prises généralement en situation d'urgence peuvent s'avérer capitales pour sauver des écosystèmes et des espèces menacées, mais elles n'indiquent pas les stratégies appropriées pour la conservation des ressources génétiques des différentes espèces individuellement. En effet, la conservation de ressources génétiques importantes au niveau intra-spécifique (c'est-à-dire de la diversité génétique existant entre différentes provenances et entre différents génotypes) peut n'être pas suffisamment garantie par les réserves intégrales étant donné que, dans la plupart des pays, ces réserves sont très limitées et réparties de façon souvent aléatoire (Kemp & Palmberg-Lerche 1994). L'absence de données sur la biologie des espèces soudano-sahéliennes en général, et sur la génétique de leurs populations en particulier ne permet pas la formulation de telles stratégies de conservation de ressources génétiques.

Toutefois, en attendant que les programmes de recherche scientifique génèrent des données pour chaque espèce importante (ce qui peut attendre longtemps encore), des rapprochements établis sur la base d'un certain nombre de connaissances existantes peuvent permettre d'orienter l'élaboration de stratégies appropriées de conservation des ressources génétiques des différentes catégories d'espèces. Ainsi les éléments suivants peuvent être pris en compte: (i) les connaissances accumulées sur la diversité génétique des espèces déjà étudiées, (ii) la répartition géographique des espèces, (iii) leur niveau de menace, (iv) leur importance socio-économique et écologique, (v) l'état des connaissances sur les conditions et les techniques de conservation *ex situ* du matériel végétal (dans les banques de graines ou de gènes, ou en champ pour les plantations conservatoires). En outre, l'adaptabilité des forêts aux aléas imprévisibles du futur, la recherche de l'adéquation optimale de l'espèce aux conditions stationnelles, la diversité des objectifs, militent en faveur de la préservation d'un nombre suffisamment important d'espèces de reboisement (Arbez 1994). Il reste bien entendu que le développement et la mise en œuvre de toute stratégie de conservation est tributaire de la disponibilité des ressources humaines et financières, des infrastructures et des équipements adéquats.

Les espèces répandues à l'échelle régionale (exemples: *Acacia senegal*, *Adansonia digitata*, *Faidherbia albida*, *Pterocarpus erinaceus*, *Sclerocarya birrea*, *Tamarindus indica*, *Zizyphus mauritiana*, etc.)

A l'instar de *P. biglobosa* (Chapitre 3), *Faidherbia albida* (Joly et al., 1992) ou *Acacia senegal* (Chevallier al., 1994), la plupart des espèces à grande distribution géographique présentent généralement un niveau de diversité génétique élevé, une faible différenciation entre les populations, contrairement aux espèces endémiques ou rares (Hamrick et al. 1991). En règle générale pour ce

type d'espèces, l'échantillonnage en vue de la conservation porte sur un nombre réduit de populations (au moins 5 par espèce) et d'arbres (10 à 50 par population) (voir Tableau 5.3).

Les espèces menacées et/ou les espèces à aire de distribution géographique restreinte (exemples: *Adenum obesum*, *Celtis integrifolia*, *Dalbergia melanoxylon*, *Pterocarpus lucens*).

La taille de l'échantillon sera essentiellement fonction du niveau de menace ou de l'étendue de l'aire de distribution. Pour les espèces qui sont à la fois menacées et réparties sur des aires restreintes, il est recommandé d'échantillonner toutes les populations et les individus desdites espèces. Pour les espèces à distribution restreinte, les causes de cet état sont importantes pour l'échantillonnage. Si l'aire de distribution d'une espèce est naturellement restreinte, elle présente moins de risque de disparition qu'une espèce dont l'étendue a été rétrécie. Dans ce cas, l'échantillonnage devra comporter au moins 10 populations et 50 individus par population.

Groupe taxonomique

En règle générale les Gymnospermes et Monocotylédones présentent un niveau de diversité élevé contrairement aux Dicotylédones. La différenciation génétique entre populations est faible chez les Gymnospermes et élevé chez les Angiospermes (Hamrick et al. 1991). Ceci implique pour la conservation, d'échantillonner un nombre modéré de populations (entre 5 et 10) et d'individus (entre 10 et 50) d'espèces de la classe des Gymnospermes et un nombre plus important (au moins 10 populations et 50 individus par population) chez les Angiospermes.

Système de reproduction des espèces

Comme chez *P. biglobosa* (Chapitre 2) et *Faidherbia albida* (Joly et al. 1992; Sina 1992), les espèces à fécondation croisée présentent en général un niveau de diversité génétique élevé et une faible différenciation entre les populations. Ceci suppose que la taille de l'échantillon devra être plus importante pour les espèces autogames (une dizaine de populations par espèce et une cinquantaine d'arbres par population) que pour les espèces allogames (de 5 à 10 populations et entre 10 et 50 individus par population).

Tableau 5.3. Guide pratique d'échantillonnage en vue de la conservation des ressources génétiques des espèces forestières soudanaises et soudano-sahéliennes

Catégorie d'espèces	Nombre de populations par espèce	Nombre d'arbres par populations
Niveau élevé de menace Distribution géographique restreinte/menacée (ex: <i>Dalbergia melanoxylon</i> , <i>Pterocarpus lucens</i>) Espèces Autogames Dicotylédones Angiospermes	Flux de gène limité entre populations Forte différenciation	Faible diversité intra-population Faible diversité
Espèces modérément menacées Espèces à reproduction mixte	Différenciation modérée	Diversité modérée
Espèces allogames Monocotylédones et Gymnospermes Distribution géographique importante (ex: <i>Adansonia digitata</i> , <i>Pterocarpus erinaceus</i> , <i>Sclerocarya birrea</i>)	Faible différenciation	Diversité élevée
Niveau de menace peu élevé	Flux de gène élevé entre populations	diversité intra-population élevée

5.4. Conclusions

Les présents travaux ont mis en évidence chez *P. biglobosa* l'impact des facteurs humains sur le niveau élevé et la structure actuels de la diversité génétique dont la préservation est l'un des objectifs essentiels de la conservation. Les méthodes traditionnelles de gestion des ressources peuvent ainsi s'avérer déterminantes dans certains cas pour le maintien de la diversité génétique des espèces agroforestières notamment. L'état actuel de dégradation des peuplements d'espèces soudano-sahéliennes en général et agroforestières en particulier pose de manière cruciale le besoin de développer pour ces différentes espèces des stratégies appropriées de conservation. Le niveau de menace et l'importance de ces espèces dans chacun des pays de la sous région devront déterminer la priorité à accorder au choix de celles à conserver. Quant à la taille des populations et des individus, elle est dictée par des paramètres biologiques, écologiques, physiologiques, anthropiques dont la connaissance constitue un préalable pour l'élaboration de stratégies de conservation *ex situ* durable, rentable et bien ciblé. C'est en analysant simultanément ces paramètres qu'il a été possible de déterminer, à l'échelle de l'Afrique de l'Ouest et du Centre, un échantillon représentatif d'une quinzaine de populations de *P. biglobosa* dont les semences seront entreposées selon les règles de l'art dans le cadre de la conservation *ex situ* de l'espèce.

Nos travaux sur *P. biglobosa* constituent avec ceux entrepris précédemment sur *Faidherbia albida* (Joly et al. 1992, Sina 1992, Zeh-Nlo 1994, Harris et al. 1997) une première pour la zone soudano-sahélienne, tant par l'étendue de l'espèce (à l'échelle du continent africain) que par la nature des données générées (paramètres biologiques et génétiques), capitales pour la définition d'une stratégie appropriée de conservation des ressources génétiques de l'espèce. Des 64 populations qui ont été analysées, il ressort qu'à l'exception des sept populations du Cameroun qui proviennent d'Afrique du Centre, toutes les autres sont ouest africaines et aucune d'elles n'est originaire d'Afrique de l'Est. S'il est vrai que la zone soudanienne d'Afrique de l'Ouest constitue la principale aire de répartition de l'espèce et même si la différenciation génétique entre populations (Fst) a été trouvée faible, il est possible que des populations évoluant dans des conditions extrêmes (pluviométrie, sol, température, etc.) présentent des caractéristiques particulières intéressantes aussi bien pour la conservation que pour l'amélioration de l'espèce. De ce point de vue, une analyse complémentaire de populations d'Ouganda, du Soudan ou de la République Démocratique du Congo par exemple pourrait s'avérer intéressante.

Des trois espèces du genre *Parkia* d'Afrique continentale, seule *P. biglobosa* suscite un grand d'intérêt, sans doute en raison de ses multiples usages. Les trois espèces présentent toutefois certaines similitudes botaniques, comme les centaines de fleurs de différentes sortes massées sur des capitules et dont la disposition est assez identique (Hopkins 1983). Il est également établi que certains pays comme la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Togo et le Nigéria abritent au moins deux de ces trois espèces et que les périodes de floraison se chevauchent notamment pour *P. biglobosa* et *P. bicolor*. N'ayant pas une aire sympatrique, des essais de croisement artificiel de ces deux dernières espèces par exemple pourraient être envisagés dans le but d'obtenir une descendance qui réunisse les caractères favorables (productivité, adaptation aux conditions soudanaises, ect.) des deux espèces parentes. La manifestation d'une vigueur hybride (hétérosis) chez les descendants pourrait contribuer à l'amélioration et à une meilleure conservation de ces espèces. Tout ceci suppose un préalable une meilleure connaissance de la biologie et de l'organisation génétique de ces espèces dont l'étude pourrait être envisagée.

Nos travaux ont également clairement montré que la conservation et la gestion durable des ressources génétiques requièrent des connaissances tant en biologie qu'en sciences humaines et sociales. Ceci implique la nécessité de constituer des équipes de recherche pluridisciplinaires au niveau national pour définir les actions à mettre en œuvre selon le canevas global suivant: (i) détermination d'un ordre de priorité des espèces à conserver; (ii) définition des activités de recherche (caractérisation, évaluation, amélioration, etc.); (iii) définition et mise en œuvre de stratégies appropriées de conservation (échantillonnage, collecte, entreposage de semences, mise en

place de plantations conservatoires, ect.). En raison de la répartition des aires naturelles de la plupart des espèces s'étendant au-delà des frontières officielles des pays, la mise en commun des efforts nationaux dans un cadre régional devrait contribuer à une plus grande efficacité des actions. En effet une répartition des tâches, basée sur les espèces, la disponibilité des ressources humaines, les infrastructures, les expériences et expertises présentes dans chaque pays pourrait permettre une économie significative de ressources financières, souvent limitées, et un gain de temps pour la conservation de plusieurs espèces dont le processus de dégradation est aussi accéléré qu'ininterrompu.

Le Centre National de Semences Forestières – CNSF, du Burkina Faso est un exemple d'institution dont les acquis peuvent être avantageusement capitalisés au profit de la sous-région. En effet, il dispose d'une longue expérience (plus de 20 ans) dans les domaines de la prospection des aires naturelles des espèces, localisation et cartographie des peuplements semenciers naturels, collecte et conservation *ex situ* de graines et de plantations et gestion *in situ* de peuplements semenciers. Par ailleurs, il possède de nombreux acquis en termes d'équipement, d'infrastructures et de ressources humaines, et de coopération régionale en matière de collecte de semences et d'organisations de rencontres. A ce titre, avec un réseau d'un millier de peuplements d'une centaine d'espèces locales et exotiques répartis à travers le pays, et environ 4 tonnes de semences collectées annuellement, il semble que le CNSF devrait définitivement renforcer son rôle dans la conservation *ex situ* à long-terme des graines. A cet effet ses efforts devront être orientés vers l'évaluation, la caractérisation, l'amélioration et la conservation des ressources génétiques forestières en collaboration avec ses partenaires nationaux (INERA/CNRST, Universités, etc.), régionaux (institutions impliquées dans la gestion des ressources génétiques forestières) et internationaux (RBG Kew, Wageningen University, Danish Centre for Forest Landscape and Planning, IPGRI, etc.). En outre le CNSF devrait réaffirmer son engagement dans la vulgarisation des résultats et des techniques, la contribution à la formation professionnelle et académique (structures de développement, ONG, étudiants, etc.). Par ailleurs le rôle des structures de développement (ONG, Groupement de paysans, structures publiques de développement rural, ect.) dans la collecte de semences destinées à une utilisation immédiate, pourrait être progressivement renforcé si un effort de contrôle efficace et un système performant de certification de la qualité du matériel sont développés par le CNSF.

Il semble bien que cette vision, tout en s'inscrivant dans la logique de l'évolution normale du CNSF, est en phase avec les enjeux nationaux et internationaux de la conservation et de l'utilisation durable des ressources génétiques forestières dont le principal objectif est de répondre aux besoins actuels des populations sans compromettre ceux des générations futures. Au regard de l'ampleur et du rythme de dégradation des écosystèmes et des espèces, et de l'érosion génétique qui en découle, la conservation des ressources génétiques à des fins d'utilisation durable constitue aujourd'hui une exigence sociale, économique et écologique. Les efforts nationaux et internationaux devront donc être conjugués pour générer au plus vite des informations scientifiques susceptibles de guider l'élaboration de stratégies adaptées de conservation des ressources génétiques des espèces. En particulier, l'extension des connaissances scientifiques de la biodiversité requiert un effort majeur coordonné à l'échelle internationale mobilisant des scientifiques de toutes les disciplines et de toutes les régions géographiques (Paris 2005). Le défi de la gestion durable des ressources génétiques, expression d'une véritable ambition scientifique et politique, peut être gagné à ce prix.

BIBLIOGRAPHIE

- Ajaiyoba EO (2002). Phytochemical and antibacterial properties of *Parkia biglobosa* and *Parkia bicolor* leaf extracts. African Journal of Biomedical Research 5: 125-129.
- Ake Assi L & Guinko S (1991). Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest. Edition Roche, 151p.
- Ake Assi L (1999). Effets de l'exploitation forestière sur la conservation de la diversité biologique en Afrique de l'Ouest: le cas de la Côte d'Ivoire. In: Ouédraogo AS & Boffa JM (eds) Vers une approche régionale des ressources génétiques en Afrique Sub-Saharienne. Actes du premier atelier régional de formation sur la conservation et l'utilisation durable des Ressources Génétiques Forestières en Afrique de l'Ouest, Afrique Centrale et Madagascar, mars 1998, Ouagadougou. CNSF/IPGRI, pp 101-106.
- Alvarez-Buylla ER & Garay AA (1994). Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer tree species. Evolution 48: 437-453.
- Arbez M (1994). Fondement et organisation des réseaux de conservation de ressources génétiques forestières. Genetics Selection Evolution 26: 301-314.
- Assane M, Baba Moussa R & Sere A (1993). Antihypertensive action of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. seeds in the rat. Dakar Medical 38: 49-54.
- Asuzu IU & Harvey AL (2003) The antsnake venom activities of *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) stem bark extract. Toxicon 42:763-768.
- Augsburger CK (1983). Phenology, flowering and fruit se of six neotropical shrubs. Biotropica 15:257-267.
- Backer HG & Harris BJ (1957). The pollination of *Parkia* by bats and its attendant evolutionary problems. Evolution 11: 449-460.
- Ballouche A & Neumann K (1995). A new contribution to the Holocene vegetation history of the west-African Sahel pollen from Oursi, Burkina Faso and charcoal from 3 sites in Northeast Nigeria. Vegetation History and Archaeobotany 4: 31-39.
- Baskin CC & Baskin JM (1998). Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego. 666 p.
- Bawa KS & Dayanandan S (1998). Causes of tropical deforestation and institutional constraints to conservation. In: Goldsmith FB (ed.) Tropical rain forest: A wider perspective. Chapman and Hall, London, pp 175-
- Bawa KS & Ng FSP (1990). Phenology - Commentary. In: Bawa KS & Hadley M (eds.) Reproductive Ecology of Tropical Forest Plants UNESCO, Paris and Parthenon Publication Group.Carnforth, UK. pp 17-20.
- Bayala J (2002). Tree crown pruning as a management tool to enhance the productivity of parkland systems in West Africa. PhD thesis, University of Wales, Bangor, UK. 207 198 p.
- Bayala J, Mando A, Teklehaimanot Z & Ouédraogo SJ (2005). Managing *Parkia biglobosa* and *Vitellaria paradoxa* prunings for crop production and improved soil properties in the sub-sudanian zone of Burkina Faso. Soil Biology & Biochemistry 37: 533-539.
- Boffa JM (2000). Les parcs agroforestiers en Afrique de l'Ouest: clés de la conservation et d'une gestion durable. Unasylva 51: 11-17.
- Bonkougou EG (1987). Monographie du néré, *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth.: espèce à usages multiples. IRBET/CNRST, Ouagadougou 69p.
- Bonnah B, Akikokou KA, Akpagana K, & Gbeassor M (1998). Contribution à l'étude des propriétés pharmacologiques des extraits hydro-alcooliques des graines de *Parkia biglobosa*, Sciences & Médecine, Revue CAMES, n° 00 pp 12-15.
- Borchert R (1994). Soil and stem water storage determine phenology and distribution of tropical dry forest trees. Ecology 75: 1437-1449.
- Boshier DH (2000). Mating systems. In: Young A, Boshier D & Boyle T (eds) Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. CSRO Publishing, CABI Publishing, pp 63- 80.
- Boshier DH, Chase MR and Bawa KS (1995) Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 2. Mating system. American Journal of Botany 82: 476-483.
- Bouvet JM, Fontaine C, Sanou H & Cardi C (2004). An analysis of the pattern of genetic variation in *Vitellaria paradoxa* using RAPD markers. Agroforestry Systems 60: 61-69.
- Brody AK (1997). Effects of pollinators, herbivores and seed predators on flowering phenology. Ecology 78: 1624-1631.
- Brown AHD & Allard RW (1970). Estimation of mating system in open-pollinated maize populations using isozyme polymorphisms. Genetics 66: 133-145.
- Brown AHD & Briggs JD (1991). Sampling strategies for genetic variation in ex situ collections of endangered plant species. In: Falk DA & Holsinger KE (eds) Genetics and Conservation of Rare Plants. New York, Oxford University Press, pp 99-119.
- Brown AHD & Hardner CM (2000). Sampling the gene pools of forest trees for ex situ conservation. In: Young A, Boshier D & Boyle T (eds) Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. CSRO Publishing, CABI Publishing, pp 185-196.
- Brown AHD (1989). Genetic characterization of plant mating systems. In: Brown AHD, Clegg MT & Weir BS (eds) Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sinauer Associates Inc., pp 145-162.

- Buitink J (2000). Biological glasses: Nature's way to preserve life. PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands. 202 pp. ISBN 90-5808-239-3.
- Burkill HM (1995). The useful plants of West Tropical Africa, 2nd Edition, Volume 3. Royal Botanical Gardens, Kew. 857p.
- Byrne MP & Moran GF (1998). Nuclear RFLP diversity in *Eucalyptus nitens*. *Heredity* 8: 225-233.
- Cardi C, Vaillant A, Sanou H, Kelly B & Bouvet JM (2005). Characterization of microsatellite markers in the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C. F Gaertn) in Mali. *Molecular Ecology Notes* 5: 524-526.
- Casiva PV, Vilardi JC, Cialdella AM & Saidman BO (2004). Mating system and population structure of *Acacia aroma* and *A. macracantha* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 9: 58-64.
- Center for Plant Conservation (1991). Genetic sampling guidelines for conservation collections of endangered plants. In: Falk DA & Holsinger KE (eds) *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York, Oxford University Press, pp 225-238.
- Ceska JF, Affolter JM & Hamrick JL (1997). Developing a sampling strategy for *Baptisia arachnifera* base on allozyme diversity. *Conservation Biology* 4: 337-352.
- Chamberlain JR (2001). Genetic markers and their application to forest genetic resources conservation and use. In: Eyog-Matig O, Kigomo B & Boffa JM (eds) *Recent research and development in forest genetic resources. Proceedings of the training workshop on the conservation and sustainable use of forest genetic resources in Eastern and Southern Africa 6-11 December, Nairaba, Kenya*. Pp59-66.
- Chapman CA, Wrangham RW, Chapman LJ, Kennard DK & Zanne AE (1999). Fruit and flower phenology at two sites in Kibale National Park, Uganda. *Journal of Tropical Ecology* 15: 189-211.
- Chevallier MH, Brizard JP, Diallo I & Leblanc JM (1994). Genetic diversity in the Acacia complex. *Bois et Forêts des Tropiques* 240: 5-12.
- Clethero CL (2002). Identifying optimum conditions for the germination and storage of tropical tree seeds. These MSC. Faculté des sciences de l'Université de Birmingham, UK, 70p.
- Crow JF & Kimarou M (1970). An introduction to population genetics Theory. Harper & Row, New York pp. 297-312
- Damstra KSJ, Richardson S & Reeler (1996). Synchronized fruiting between trees of *Ficus thonningii* in seasonally dry habitats. *Journal of Biogeography* 23: 495-500.
- Dansereau P (1987). Biogéographie. In: Editions Stanké, L'Encyclopédie du Canada, vol. 1, Montréal, pp 224-226.
- Danthu P, Roussel J, Gaye A & Elmazzoudi EH (1995). Baobab (*Adansonia Digitata* L.) seed pre-treatments for germination improvement. *Seed Science and Technology* 23: 469-475.
- de Bie S, Ketner P, Paasse M & Geerling C (1998). Woody plant phenology in the West Africa savanna, *Journal of Biogeography* 25: 833-900.
- de Kam M & Nikiéma A (1996). Projet assistance néerlandaise au Centre National de Semences Forestières. Rapport final. Institut de Recherche Forestière et de l Nature (IBN-DLO), Wageningen, Pays Bas. 98p.
- Devineau JL (1999). Seasonal rhythms and phenological plasticity of savanna woody species in a fallow farming system (South-West Burkina Faso). *Journal of Tropical Ecology* 15: 497-513.
- Diallo BO (2001). Evaluation de la diversité génétique et Biologie de la reproduction d'une légumineuse: *Tamarindus indica* L. (Caesalpinioideae). Thèse de doctorat Université de Montpellier II. Science et Technique du Languedoc, France. 116p. + annexes.
- Diallo BO, Sanou J, Some Dao M, Cao TV & Salwu A (2000). Rapport d'activités final. Projet FAC N° 94/CD/78/BKA Volet 1: « Amélioration génétique des ligneux soudano-sahéliens » INERA/CNRST, CIRAD-Forêt, Mission de Coopération et d'Action Culturelle / Coopération Française. 199p.
- Diamond J (1997). *Guns, Germs and Steel: the fates of Human Societies*. Vintage, Random House, London, UK.
- Direction de la Météorologie Nationale (2001). Relevés pluviométriques. Rapport annuel météorologique. Ministère des Transports, Ouagadougou, Burkina Faso.
- Doligez A & Joly HI (1997a). Mating system of *Carapa procera* (Meliaceae) in the French Guiana tropical forest. *American Journal of Botany* 84: 461-470.
- Doligez A & Joly HI (1997b). Genetic diversity and spatial within a natural stand of tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae) in French Guiana. *Heredity* 79: 72-82.
- Dubreuil P & Charcosset A (1998). Genetic diversity within and among maize populations: a comparison between isozyme and nuclear RFLP loci. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 577-587.
- Dunphy BK, Hamrick JL & Schwagerlt J (2004). A comparison of direct and indirect measures of gene flow in the bat-pollinated tree *Hymenaea courbaril* in the dry forest life zone of Southwestern Puerto Rico. *International Journal of Plant Sciences* 165: 427-436.
- Ellis RH, Hong TD & Roberts EH (1990). An intermediate category of seed storage behaviour ? I. Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41: 1167-1174
- Fage JD (1964). Reflections on the Early History of the Mossi-Dagomba Group of States. In: Vansina J, Mauny R., & Thomas LV (eds) *The Historian in Tropical Africa*. London, Oxford University Press, pp 177-192.
- Fairhead J & Leach M (1995). False forest history, complicit social analysis: rethinking some West African environmental narratives. *World Development (Oxford)* 23: 1023-1035.
- Falk (1991). Joining biological and economic models for conserving plant genetic diversity. In: Falk DA & Holsinger KE (eds) *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York, Oxford University Press, pp 209-223.

- FAO (Food and Agricultural Organisation) (1994). Conservation des ressources génétiques dans l'aménagement des forêts tropicales. Principes et concepts. Etudes FAO, Forêt 107, 117p.
- FAO (Food and Agricultural Organisation) (1996). Report on the state of world's plant genetic resources. International Technical Conference on Plant Genetic Resources, Leipzig, Germany. FAO, Rome
- FAO (Food and Agricultural Organisation) (2001). State of the world's forests 2001. Executive summary. 4p.
- FAO (Food and Agricultural Organisation) (2002). Evaluation des ressources forestières mondiales 2000. Rapport principal.
- FAO (Food and Agriculture Organization) (1992). Guide de manipulation des semences forestières. Etude F.A.O 20/2 Rome 444p.
- FAO (Food and Agriculture Organization)/ IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). 1994. Genebank Standards. FAO, Rome.
- Feur S, Niezgodą CJ & Nevling LI (1985). Ultrastructure of *Parkia* polyads (Mimosoideae: Leguminosae). American Journal of Botany 72: 1871-1890.
- Fontes J et Guinko S (1995). Carte de végétation et d'occupation du sol du Burkina Faso. Note explicative. Institut de la Carte Internationale de la Végétation/(UMR9964) Centre National de Recherche Scientifique/Université de Toulouse III. Institut du Développement Rural/Faculté des Sciences et Techniques/Université de Ouagadougou (Burkina Faso). 69p.
- Franceschinelli ED & Bawa KS (2000). The effect of ecological factors on the mating system of South America shrubs species (*Helicteres brevispira*). Heredity 84: 116-123.
- Frankie GW, Baker HG & Opler PA (1974). Tropical plant phenology: application for study in community ecology. In Lieth H (ed.) Phenology and seasonality modelling. Springer-Verlag, Berlin, pp 85-296.
- Fuchs E, Lobo JA & Quesada M (2004). Effects of forest fragmentation and flowering phenology on reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. Conservation Biology 17: 149-157.
- Gaméné CS (1987). Contribution à la maîtrise des méthodes simples de prétraitement et de conservation des semences de quelques espèces ligneuses récoltées au BF. Mémoires de fin d'étude. IDR/Université de Ouagadougou. 94p
- Gaméné CS, Pritchard HW & Daws MI (2004). Effects of desiccation and storage on *Vitellaria paradoxa* seed viability. 57-66 p. In Sacandé M, Joeker D, Dulloo ME & Tompsen K. 2004. *Comparative storage biology of tropical tree seeds*. IPGRI, Rome, Italy. 363 pp. ISBN 92-9043-641-7.
- Gaméné, CS, 1995. Etude de la conservation des semences forestières. Rapport n°14. CNSF, 25 pp.
- Gapare WJ, Aitken SN & Ritland CE (2005). Genetic diversity of core and peripheral Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong) Carr) populations: implications for conservation of widespread species. Biological Conservation 123: 113-123.
- Glaubitz JC & Moran GF (2000). Genetic tools: use of biochemical and molecular markers. In: Young A, Boshier D et Boyle T (eds) Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. CSIRO Publishing, CABI Publishing, pp 39-62.
- Goldblatt P (1981). Cytology and the phylogeny of Leguminosae. In: Polhill RM & Raven PH (eds) Advances in legume systematics, part 2. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 427-463.
- Gomez JM (1993). Phenotypic selection on flowering synchrony in a high mountain plant *Hormathophylla spinoosa* (Cruciferae).
- Gram WK & Sork VL (1999). Population density as predictor of genetic variation for woody plant. Conservation Biology 13: 1079-1087.
- Grivet L & Noyer JL (1999). Les méthodes de marquage biochimique et moléculaire. In: Hamon P, Seguin M, Perrier X & Glaszmann JC (eds) Diversité génétique des plantes tropicales cultivées. CIRAD, pp 13-42.
- Grouzis M & Sicot M (1980). Une méthode d'étude phénologique de populations d'espèces ligneuses sahéliennes. Influence de quelques facteurs écologiques, A..C.C. Lutte contre l'aridité dans l'Oudalan (Haute Volta) DGRST-ORSTOM, 11p.
- Guinko S (1999) La diversité des ressources génétiques forestières au Burkina Faso. In: Ouédraogo AS et Boffa JM (eds) Vers une approche régionale des ressources génétiques en Afrique Sub-Saharienne. Actes du premier atelier régional de formation sur la conservation et l'utilisation durable des Ressources Génétiques Forestières en Afrique de l'Ouest, Afrique Centrale et Madagascar, mars 1998, Ouagadougou. CNSF/IPGRI, pp 89-100.
- Guinko S & Pasgo LJ (1992). Récolte et commercialisation des produits non ligneux des essences forestières locales dans le département de Zitenga, au Burkina Faso. Unasylva 43: 16-19.
- Guitian J & Sanchez JM (1992). Flowering phenology and fruit set of *Petrocoptis grandiflora* (Caryophyllaceae). International Journal of Plant Sciences 153: 409-412.
- Hall JB, Thomlinson HF, Oni PI, Buchy M & Aebischer DP (1997). A monograph of *Parkia biglobosa*. School of Agricultural and Forest Sciences Publication No9, Bangor, University of Wales, 107p.
- Hall P, Chase MR & Bawa KS (1994a). Low genetic variation but high population differentiation in a common tropical forest tree species. Conservation Biology 8: 471-47.
- Hall P, Oreć LC & Bawa KS (1994b). Genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). American Journal of Botany 81: 1104-1111.
- Hall P, Walker S & Bawa KS (1996). Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. Conservation Biology 10: 757-768.

- Hamrick JL & Godt MJ (1996). Effects of life history on genetic diversity in plant species. *Phil. Trans. Royal Society B* 351: 1291-1298.
- Hamrick JL & Godt MJW (1989). Allozyme diversity in plant species. In: Brown AH, Clegg MT, Kahler AL, & Weir BS (eds.) *Population genetics, breeding and genetic resources*, Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA, pp 43–63.
- Hamrick JL & Murawski DA (1990). The breeding structure of tropical tree populations. *Plant Species Biology* 5: 157-165
- Hamrick JL, Godt MJ & Sherman-Brolles SL (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95-124.
- Hamrick JL, Godt MJW, Murawski DA & Loveless MD (1991) Correlation between species traits and allozyme diversity: Implications for conservation biology. In: Falk DA & Holsinger KE (eds) *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York, Oxford University Press, pp 75-86.
- Hamrick JL, Murawski DA & Nason JD (1993). The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetatio* 107/108: 281-297.
- Handley CO, Gardner AL & Wilson DE (1991). Food habits. In: Handley CO, Gardner AL & Wilson DE (eds) *Demography and natural history of the common fruit bat *Artibeus jamaicensis* on Barro Colorado Island*, Panama. Smithsonian Books. Pp141-146.
- Harrington JF (1960). Thumb's rules of drying seed. *Crops & soils* 13, 16-17.
- Harrington JF (1973). Packaging seed for storage and shipment. *Seed Science and Technology* 1: 701-709.
- Harris SA, Flagg CW & Barnes RD (1997). Isozyme variation in *Faidherbia albida* (Leguminosae, Mimosoideae). *Plant Systematic and Evolution* 207: 119-132.
- Hay FR & Smith RD (2003). Seed Maturity: when to collect seeds from wild plants. Pp 97-133 in: R. D. Smith, J. B. Dickie, S. H. Linington, H. W. Pritchard, R. J Probert (eds). *Seed conservation: turning science into practice*. RBG,KEW,UK.
- Hayati A, Wickneswari IR, Mazura I & Rajanaidu N (2004). Genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) germplasm collections from Africa: implications for improvement and conservation of genetic resources. *Theory of Applied Genetics* 108: 274-1284.
- Hoekstra FA, Golovina EA & Buitink J (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 389-440.
- Hoerner MA, Fleming TH & Sahley CT (1998). Foraging behaviour and energetics of nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Zoology* 244: 575-586.
- Holsinger KE & Gottlieb LD (1991). Conservation of rare and endangered plants. In: Falk DA & Holsinger KE (eds) *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York, Oxford University Press, pp 195-208.
- Hong TD, Linington S, Ellis RH (1998) *Compendium of information on seed storage behaviour*. 2 volumes. Royal Botanic Gardens Kew, UK, 900 pp. Also searchable at <http://www.rbgekew.org.uk/data/sid/sidsearch.html>
- Hopkins HC (1986) *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Flora Neotropica Monograph*, 43: 1-124.
- Hopkins HC & Hopkins MJG (1982). Predation by snake of a flower-visiting bat at *Parkia nitida* (Leguminosae: Mimosoideae). *Brittania* 34: 225-227.
- Hopkins HC & White F (1984) The ecology and chorology of *Parkia* in Africa. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique Bulletin National Plantentuin*, 54: 235-266
- Hopkins HC (1983). The taxonomy, reproductive biology and economic potential of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) in Africa and Madagascar. *Botanical Journal of the Linnean Society* 87: 135-167.
- Hopkins HC (1984). Floral biology and pollination ecology of the Neotropical species of *Parkia*. *Journal of Ecology* 72: 1-23.
- Huenneke LF (1991). Ecological implications of genetic variation in plant population. In: Falk DA & Holsinger KE (eds) *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York, Oxford University Press, pp 31-44.
- ISTA (International Seed Testing Association) (2004). *International rules for seed testing*. ISTA, Zurich
- IUCN (International Union for the Conservation of Nature) (2004). *IUCN Red List of Threatened Species*. Disponible sur le site www.redlist.org.
- James T, Vege S, Aldrich P & Hamrick JL (1998). Mating systems of three tropical dry forest tree species. *Biotropica* 30: 587-594.
- Joly HI, Zeh-Nlo M, Danthu P & Aylgale C (1992). Population genetics of an African Acacia: *Acacia albida*. I. Genetic diversity of populations from West Africa. *Australian Journal of Botany* 40: 59-73.
- Justiniano MJ & Fredericksen TS (2000). Phenology of tree species in Bolivian dry forests. *Biotropica* 32: 276-281.
- Kameswara Rao N (2004). Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology* 3: 136-145.
- Kelly BA, Hardy OJ & Bouvet JM (2004). Temporal and spatial genetic structure in *Vitellaria paradoxa* (shea tree) in agroforestry system in Southern Mali. *Molecular Ecology* 13: 1231-1240.
- Kemp RH & Palmberg-Lerche C (1994). Conserving genetic resources in forest ecosystems. In: *The Challenge of Sustainable Forest Management*. FAO Forestry Paper 122, FAO, Rome pp. 101-117.
- Kerharo J & Adam J (1974). *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques*. Paris, Vigot & Frères. 1011 pp.

- Kessler JJ (1992). The Influence of karité (*Vitellaria paradoxa*) and néré (*Parkia biglobosa*) trees on sorghum production in Burkina Faso. *Agroforestry Systems* 17: 97-118.
- Ki G (1994). Etude socio-économique de la gestion de *Parkia biglobosa* (Jacq.) R. BR. ex G. Don (Néré) au Burkina Faso. Mémoire d'Ingénieur du Développement Rural (Eaux et Forêts), Université de Ouagadougou, 146 pp. + annexes.
- Kouadio F, Kanko C, Juge M, Grimaud N, Jean A, N'Guessan YT & Petit YJ (2000). Analgesic and anti-inflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. *Phytotherapy Research* 14: 635-637.
- Lawrence MJ, DF Marshall, and P Davies. 1995. Genetics of genetic conservation. I. Sample size when collecting germplasm. *Euphytica* 84:89-99.
- Leopold AC, Sun WQ & Bernal-Lugo I (1994). The glassy state in seeds: analysis and function. *Seed Science Research* 4: 267-274
- Lepsch-Cunha N & Mori SA (1999). Reproductive phenology and mating potential in a low density tree population of *Couratari multiflora* (Lecythidaceae) in Central Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* 15: 97-121.
- Liengsiri C, Boyle TJB & Yeh FC (1998). Mating system in *Pterocarpus macrocarpus* Kurz in Thailand. *The Journal of Heredity* 89: 216-221.
- Linington SH & Pritchard HW (2001). Gene banks. *Encyclopedia of Biodiversity* 3: 165-181.
- Lobo JA, Quesada M & Stoner KE (2005). Effect of pollination by bats on the mating system of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) populations in two tropical life zones in Costa Rica. *American Journal of Botany* 92: 370-376.
- Loveless MD (1992). Isozymes variation in tropical trees: patterns of genetic organisation. *New Forests* 6: 67-94.
- Lovett P & Haq N (2000). Diversity of Sheanut tree (*Vitellaria paradoxa* C. F Gaertn) in Ghana. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 293-304.
- Luckow M & Hopkins HCF (1995). A cladistic analysis of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). *American Journal of Botany* 82: 1300-1320.
- Luckow M (2005). Mimoseae. In: Lewis G, Schrire B, Mackinder B & Lock M (eds) *Legumes of the world*. RBG Kew, pp 163-183.
- Maad J & Reinhammar LG (2004). Incidence of geitonogamy differs between two populations in the hawkmoth-pollinated *Platanthera bifolia* (Orchidaceae). *Canadian Journal of Botany* 82: 1586-1593.
- Maïga A (1987). L'arbre dans les systèmes agroforestiers traditionnels dans la province de Bazéga: Influence du karité, du néré et de l'*Acacia albida* sur le sorgho et le mil. CNRST/IRBET, Ouagadougou. 84 pp.
- Maïga A (1988). Contribution à la prospection et à la sélection des peuplements naturels de *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. au Burkina Faso. Mémoire de fin d'études, Université de Ouagadougou, 85p.
- Mangenot S & Mangenot G (1957). Nombres chromosomiques nouveaux chez diverses dicotylédones et monocotylédones d'Afrique occidentale. *Bulletin du Jardin Botanique de l'Etat, Bruxelles*, 27: 639-654.
- Maranz S & Wiesman Z (2003). Evidence of indigenous selection and distribution of shea tree, *Vitellaria paradoxa*, and its potential significance to prevailing parkland savannah tree patterns in sub-Saharan African north of the equator. *Journal of Biogeography* 30: 1505-1516.
- Marshall DR & Brown AHD (1975). Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: Frankel OH & Hawkes JG (eds) *Crop genetic resources for today and tomorrow*. Cambridge University Press, pp 53-80.
- Maydell (von) HJ (1983). Arbres et arbustes du Sahel: leurs caractéristiques et leurs utilisations. *Schftenreihe der GTZ* n° 147, ESCHO. 531p.
- Medellin RA, Equihua M & Amin MA (2000). Bat diversity and abundance as indicators of disturbance in neotropical rainforests. *Conservation Biology* 14: 1666-1675.
- MEE (Ministère de l'Environnement et de l'Eau) (1999). Monographie Nationale sur la Diversité Biologique au Burkina Faso.
- Millar MA, Byrne M, Coates DJ, Stukely MJ & McCom JA (2000). Mating system studies in jarrah, *Eucalyptus marginata* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* 48: 475-479.
- Millogo-Rasolondimby J & Nacro M (1996). Plantes tinctoriales et plantes à tannin du Burkina Faso. *Scientifika*. 152 pp.
- Mitton JB (1983). Conifères. In: Tanksley SD & Orton TJ (eds) *Isozymes in plant genetics and breeding Part B*. Elsevier, pp 443-472.
- Moran GF & Bell JC (1983). *Eucalyptus*. In: Tanksley SD et Orton TJ (eds) *Isozymes in plant genetics and breeding Part B*. Elsevier, pp 423-443.
- Moran GF, Muona O & Bell JC (1989a). Breeding systems and genetic diversity in *Acacia auriculiformis* and *Acacia crassicaarpa*. *Biotropica* 21: 250-256.
- Moran GF, Muona O & Bell JC (1989b). *Acacia mangium*: a tropical forest tree of the costal lowlands with low genetic diversity. *Evolution* 43: 231-235.
- Muhammad S & Amusa NA (2003). Distribution and socio-economics of two leguminous tree species. *Global Journal of Agriculture Sciences* 2: 122-126.
- Muluvi GM, Sprent JI, Odee D & Powell, W (2004) Estimates of outcrossing rates in *Moringa oleifera* using Amplified fragment length polymorphism (AFLP). *African Journal of Biotechnology* 3(2):pp. 146-151.
- Murawski DA & Hamrick JL (1991). The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. *Heredity* 67: 167-174.

- Murawski DA & Hamrick JL (1992a). The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions. *Biotropica* 24: 99-101.
- Murawski DA & Hamrick JL (1992b). Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Panama. *Journal of Heredity* 83: 401-404.
- Murawski DA, Murawski JL, Hubbel SP & Foster RB (1990). Mating system of two Bombacaceae trees of a neotropical moist forest. *Oecologia* 82:501-506.
- Myers N & Knoll AH (2001). The biotic crisis and the future of evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 10: 5389-5392.
- Myers N (1994). Global biodiversity 2. Losses. In: Meffe, G.K. and Carroll, C.R. (eds). *Principles of Conservation Biology*, Sinauer Associates Inc, Sunderland, Massachusetts . pp 110-140.
- Nacoulma-Ouédraogo O (1996). *Plantes médicinales et Pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du plateau central*. Tome I. Thèse de Doctorat d'Etat es Sciences Naturelles. Université de Ouagadougou, 320 pp.
- Nassar JM, Hamrick JL & Fleming TH (2003). Population genetic structure of Venezuelan Chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany* 90: 1628-1637.
- Nations Unies (1993). *Convention sur la Diversité Biologique conclue à Rio de Janeiro le 5 juin 1992*. Recueil de textes. Vol. 1760, I-30619, pp 170-382.
- Nations Unies (2002). *Rapport du Sommet mondial pour le développement durable*. Johannesburg (Afrique du Sud) 26 aout-4 septembre 2002. 191p.
- Ndir B, Lognay, G, Wathelet B, Cornelius MM & Thonart P (2000). Chemical composition of netetu, a food condiment from fermented *Parkia biglobosa* seeds. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 4: 101-105.
- Neel MC & Cumming MP (2003). Effectiveness of conservation targets in capturing genetic diversity. *Conservation Biology* 17: 219-229.
- Neel MC & Ellstrand NC (2003). Conservation of genetic diversity in the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *vineum* (Polygonaceae). *Conservation Biology* 17: 219-229.
- Neel MC, Ross-Ibarra J & Ellstrand NC (2001). Implications of mating patterns for conservation of the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *Vineum* (Polygonaceae). *American Journal of Botany* 88: 1214-1222.
- Nei M (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106: 283-292.
- Nei M (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nei M, Maruyama T & Chakraborty R (1975). The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29: 1-10.
- Neumann K, Kahlheber S & Uebel D (1998). Remains of woody plants from Saouga, a medieval West African village. *Vegetation History and Archaeobotany* 7: 57-77.
- Newstrom LE, Frankie GW & Baker HG (1994). A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26: 141-159.
- Nikiéma A (1993). *Regeneration of Parkia biglobosa* (Jacq.) R. Br; ex G. Don in an agroforestry system. A pilot study in Burkina Faso. Thesis for MSc. degree in Tropical Forestry. Wageningen Agricultural University. 42p.
- Nikiéma A (2005). *Agroforestry parkland species diversity: uses and management in semi-arid West Africa (Burkina Faso)*. PhD Thesis Wageningen University, 102p.
- Nikiéma A, Sanon MD, Fraiture de, A & Tolkamp GW (1993). *Fiches de production de plants en pépinière*. Note technique n°4. CNSF, Ouagadougou. 91 pp.
- Novacek MJ et Cleland EE (2001). The current biodiversity extinction event: Scenarios for mitigation and recovery. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 98: 5466-5470.
- Nybohm H (2004). Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 13: 1143 -1155.
- O'Connell LM, Viard F, Russel J & Ritland K (2001). The mating system in natural populations of western redcedar (*Thuja plicata*). *Canadian Journal of Botany* 79: 753-756.
- O'Malley DM & Bawa KS (1987). Mating system of a tropical rain forest tree species. *American Journal of Botany* 74: 1143-1149.
- Oluwaseun AS & Awolowo AB (2005). Induction of callus and somatic embryogenesis from cotyledon explants of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. *African Journal of Biotechnology* 4: 68-71.
- Omafuvbe BO, Falade OS, Osuntogun BA & Adewusi SRA (2004). Chemical and biochemical changes in African locus bean (*Parkia biglobosa*) and Melon (*Citrus vulgaris*) seeds during fermentation to condiments. *Pakistan Journal of Nutrition* 3: 140-145.
- Oubida WR (2005). *Influence du temps et des conditions de conservation sur la viabilité et la germination des semences*. Cas de *Acacia senegal*, *Bauhinia rufescens*, *Faidherbia albida*, *Parkia biglobosa* et *Parkinsonia aculeata*. Mémoire de fin d'étude Ingénieur. Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso. 60p.
- Ouédraogo AS (1986). *Essai comparatif de provenances d'Acacia albida à Gonsé, Burkina Faso*. Semences Forêts-Développement, No 00, 27-32.
- Ouédraogo AS (1995). *Parkia biglobosa* (Leguminosae) en Afrique de l'Ouest: Biosystématique et Amélioration. These doctorat Wageningen University, Institute for Forestry and Nature Research, IBN-DLO. 205p.
- Ouédraogo AS (1999). *Conservation des ressources génétiques forestières*. In: Ouédraogo AS et Boffa JM (eds) *Vers une approche régionale des ressources génétiques en Afrique Sub-Saharienne*. Actes du premier atelier régional de

- formation sur la conservation et l'utilisation durable des Ressources Génétiques Forestières en Afrique de l'Ouest, Afrique Centrale et Madagascar, mars 1998, Ouagadougou. CNSF/IPGRI, pp 23-29.
- Ouédraogo SJ & Alexandre DY (1996). Dynamique des parcs à *Faidherbia albida*. Contraintes écologiques et économiques sur le terroir de Watinoma au Burkina Faso. In: Les parcs à *Faidherbia*, Cahiers Scientifiques du CIRAD-Foret. Paris, CIRAD-ORSTOM-CORAF 12: 191-202.
- Ouoba LII, Rechinger KB, Barkholt V, Diawara B, Traoré AS & Jakobsen M (2003). Degradation of proteins during the fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) by strains of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* for production of soumbala. *Journal of Applied Microbiology* 94: 396-402.
- Palmberg C (1985). Sampling in seed collection. In: Forest tree improvement. FAO Forestry Paper No. 20: 41-45. FAO Rome.
- Paris (2005). Déclaration de la conférence internationale « Biodiversité: science et gouvernance », tenue à Paris du 24 au 28 janvier. Disponible sur www.recherche.gouv.fr.
- Pascarella JB (1997). The mating system of the tropical understory shrub *Ardisia escallonioides* (Myrsinaceae). *American Journal of Botany* 84: 456-460.
- Pasteur N, Murawski G, Bonhomme F, Catalan J & Britton-Davidan J (1987). Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. Technique et Documentation (Lavoisier), Paris, 217p.
- Patterson B, Vaillancourt RE, Pilbeam DJ & Potts BM (2004). Factors affecting variation in outcrossing rate in *Eucalyptus globulus*. *Australian Journal of Botany* 52: 773-780.
- Petit RJ, El Mousadik A & Pons O (1998). Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12: 844-855.
- Poupon H (1979). Etude de la phénologie de la strate ligneuse à Fété-Olé (Sénégal septentrional) de 1971 à 1977. *Bulletin IFAN-Dakar*, Vol. 41, série A, 1: 44-85.
- Quesada M, Stoner KE, Lobo JA, Herrerias-Diego Y, Palacios-Guevara C, Munguia-Rosa MA, Salazar KAO & Rosa-Guerrero V (2004). Effect of forest fragmentation on pollinator activity and consequences for plant reproductive success and mating patterns in bat-pollinated Bombacaceae trees. *Biotropica* 36: 131-138.
- Ræbild A, Graudal L & Ouédraogo LG (2003). Evaluation of a species and provenances trial of *Acacia nilotica*, *A. seyal* and *A. tortilis* at Gonsé, Burkina Faso. Trial no. 10 in the arid zone series. Results and Documentation No. 9. CNSF, Danida Forest Seed Centre, FAO, 72p.
- Ramirez N (2002). Reproductive phenology, life-forms and habitats of the Venezuelan Central Plain. *American Journal of Botany* 89: 836-842.
- RBG (Royal Botanic Gardens) Kew (2002). Annual Report and Accounts 2001/02, for the year ended 31 March 2002. RBG Kew, London, UK, 92 pp.
- Ribeiro RA & Lovato MB (2004). Mating system in neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). *Genetics and Molecular Biology* 27: 418-424.
- Ritland K & El-Kassaby YA (1985). The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas fir as shown by an efficient multilocus model. *Theory of Applied Genetics* 71: 371-384.
- Ritland K & Jain S (1981). A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. *Heredity* 47: 35-52.
- Ritland K (1986). Joint maximum likelihood estimation of genetic and mating structure using open-pollinated progenies. *Biometrika* 42: 25-43.
- Ritland K (1989). Correlated mating in the partial selfer *Mimulus guttatus*. *Evolution* 43: 848-859.
- Ritland K (2002). Multilocus mating system program (MLTR), version 2.4. Department of Forest Sciences, University of British Columbia, Canada.
- Rivera-Ocasio E, Aide MT & McMillan WO (2002). Patterns of genetic diversity and biogeographical history of the tropical wetland tree, *Pterocarpus officinalis* (Jacq.), in the Caribbean basin. *Molecular Ecology* 11: 675-683.
- Roberts EH (1973). Predicting the storage life of seeds. *Seed Science Technology* 1: 499 – 514.
- Roberts EH (1986). Quantifying seed deterioration. *Special Publication, CSSA* 11: 101-123.
- Rocha OJ & Aguilar G (2001b). Reproductive biology of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica: a comparison between trees left in pastures and trees in continuous forest. *American Journal of Botany* 88: 1607-1614.
- Rocha OJ et Aguilar G (2001a). Variation in the breeding behaviour of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica. *American Journal of Botany* 88: 1600-1606.
- Rosseto M, Weaver PK & Dixon KW (1995). Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). *Molecular Ecology* 4: 321-329.
- Sacandé M, Hoekstra, FA, Van Pijlen JG & Groot SPC (1998). A multifactorial study of conditions influencing neem (*Azadirachta indica*) seed storage longevity. *Seed Science Research* 8: 473-482.
- Sacandé M. 2000. Stress, Storage and Survival of Neem seed. PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands. 124 pp. ISBN 90-5808-210-5.
- Sacandé, M., Pritchard, H.W. & Dudley, A.E. (2004). Germination and storage characteristics of *Prunus africana* seeds. *New Forests*, 27, 239-250.
- Sanou H, Kambou S, Teklehaimanot Z, Dembélé D, Yossi H, Sina S, Djingdia L & Bouvet JM (2004). Vegetative propagation of *Vitellaria paradoxa* by grafting. *Agroforestry Systems* 60: 93-99.

- Sanou H, Lovett P & Bouvet JM (2005). Comparison of quantitative and molecular variation in agroforestry populations of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C. F Gaertn) in Mali. *Molecular Ecology* 14: 2601-2610.
- Schoen DJ & Brown AHD (1991). Intraspecific variation in population gene diversity and effective population size correlates with the mating system in plants. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 88: 4494-4497.
- Schoen DJ & Brown AHD (2001). The conservation of wild plants species in seed banks. *BioScience* 51: 960-966.
- Schoen DJ, David JL & Bataillon TM (1998). Deleterious mutation accumulation and the regeneration of genetic resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 9: 394-399.
- Schreckenberg K (1999). Products of Managed landscape: non-timber products in the parklands of the Bassila Region, Benin. *Global Ecology and Biogeography* 8: 279-289.
- Shao M (2000). *Parkia biglobosa*: changes in resource allocation in Kandiga, Ghana. MSc thesis. Michigan Technical University. 106p.
- Shrestha MK, 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.
- SID (Seed Information Database). (2004). Site d'information des donnees sur les semences, disponible a <http://www.rbgekew.org.uk/data/sid> (release 6.0, October 2004).
- SIL International (2005). Gordon RG, Jr. (ed.) *Ethnologue: Language of the World*, Fifteenth edition. Dallas, Tex.: Online version: <http://www.ethnologue.com/>.
- Sina S (1990). *Phénologie: méthodes d'études*. Rapport d'accueil au Laboratoire d'Ecologie ORSTOM Dakar. CNSF, Ouagadougou, Burkina Faso, 11p.
- Sina S (1992). Contribution à l'étude de la variabilité génétique de populations naturelles d'*Acacia albida* (Del.) du Burkina Faso: apport du polymorphisme isoenzymatique. Mémoire de DEA.. Université de Nancy I, ENGREF, CTFT, 33p.
- Slatkin M (1975). The influence of Gene flow on Genetic Distance. *The American Naturalist* 109: 597-601.
- Slatkin M (1985). Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:393-430.
- Soltis DE & Soltis PS (eds) (1989). *Isozymes in Plant Biology*. *Advances in Plant Sciences* 4. Portland: Dioscorides.
- Some, L.M., Sary, H. & Bellefontaine, R. 1990. Conservation en chambre froide des graines pretraitees de six especes sahelo-soudaniennes. *Bois et Forets des Tropiques* 225, 42-46.
- Sun C, Kaplin BA, Kristensen KA, Munyaligoga V, Mvukkiyumwami J, Kajondo KK & Moermond TC (1996). Tree phenology in a tropical montane forest in Rwanda. *Biotropica* 28: 668-681.
- Teklehaimanot Z (2004a). Exploiting the potential of indigenous agroforestry trees: *Parkia biglobosa* and *Vitellaria paradoxa* in sub-Saharan Africa: new visitas in agroforestry. *Agroforestry systems* 61: 207-220.
- Teklehaimanot Z (2004b) Improved management of agroforestry parkland systems in Sub-Saharan Africa. Final Project Report. Contract number ERBIC18CT98-0261.
- Teklehaimanot Z, Tomlinson H, Lemma T & Reeves K (1996). Vegetative propagation of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., an undomesticated fruit tree from West Africa. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 71: 205-215.
- Teklehaimanot Z, Tomlinson H, Ng'Andwe M & Nikiéma A (2000). Field and in vitro methods of propagation of the African locust bean tree (*Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 75: 42-49.
- Timmer LA, Kessler JJ & Singerland M (1996). Pruning of néré trees (*Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth.) on the farmlands of Burkina Faso, West Africa. *Agroforestry Systems* 33: 87-98
- Tolun AA, Velioglu E, Cengel BN & Kaya Z (2000). Genetic structure of Black Pine (*Pinus nigra* ARNOLD subspecies pallasiana) populations sampled from the Bolkar Mountains. *Sylvae Genetica* 49: 113-119.
- Tomlinson H, Teklehaimanot Z, Traoré & Olapade E (1995). Soil amelioration and root symbioses of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth.) in West Africa. *Agroforestry systems* 30: 145-159.
- Vertucci CW & Roos EE (1993). Theoretical basis of protocols for seed storage. II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Science Research* 3: 201-213.
- Wahlund S (1928). The combination of populations and the appearance of correlation examined from the standpoint of the study of heredity. *Hereditas* 11: 65-106.
- Walters C (1998). Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research* 8: 223-244.
- Wickneswari R & Norwati M (1993). Genetic diversity of natural populations of *Acacia auriculiformis*. *Australian Journal of Botany* 41: 65-77.
- Wilks IG (1972). The Mossi and Akan States, 1500-1800. In: Crowder M & Ade Ajayi JF (eds) *History of West Africa*. New York: Columbia University Press, pp 344-386.
- William-Linera G (1997). Phenology of deciduous and broadleaved – evergreen tree species in a Mexican tropical lower montane forest. *Global Ecology and Biogeography Letters* 6: 115-127.
- Wright S (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Wulff EV (1943). *An introduction to historical Plant Geography*. *Chronica Botanica Comp.*, Waltham, Mass.
- Yeh FC & Boyle T (1999). POPGENE version 1.32. The user-friendly software for population genetic analysis. University of Alberta and CIFOR, Calgary, Alta.

-
- Yeh FC (2000). Population genetics. In: Young A, Boshier D & Boyle T (eds) Forest Conservation Genetics: Principle and practice, pp 21-37.
- Yossi H & Kouyaté AM (2001). Les arbres hors forêt: le cas du Mali. In: Bellefontaine R, Petit S, Pain-Orcet M, Deleporte P & Bertault JG (eds) Les arbres hors forêts: vers une meilleure prise en compte. Cahier FAO Conservation 35, 231p.
- Zeh-Nlo M (1994). Gestion des ressources génétiques de *Faidherbia albida*: étude de paramètres de contrôle des flux de gènes intra-population. Thèse de doctorat, ENGREF, Nancy.



Remerciements

Le présent travail a été réalisé dans le cadre des programmes de recherche du CNSF (Burkina Faso) dont j'ai bénéficié des facilités. Le financement a été assuré pour l'essentiel par l'Union Européenne dans le cadre de l'ex-projet (Contrat TS3*-CT92-0072) sur l'amélioration et la conservation de *Parkia biglobosa*. Le travail a pu être finalisé grâce aux appuis financiers complémentaires de l'Université de Wageningen (Pays Bas), du CIRAD-Forêt (France) et du Millenium Seed Bank (MSB) Project au Royal Botanic Gardens de Kew (Royaume Uni). J'exprime ma reconnaissance à toutes ces institutions.

La réalisation de ce travail a été rendu possible grâce aussi aux diverses contributions de plusieurs personnes qu'il me plaît de remercier.

Je voudrais d'abord témoigner toute ma gratitude au Professeur L.J.G. van der Maesen mon promoteur, pour sa constante disponibilité, malgré ses nombreuses occupations, ses précieux conseils et sa rigueur scientifique qui m'ont permis de finaliser ce travail.

Je suis reconnaissant envers le Dr Hélène Joly, Chef de l'Unité Gestion des ressources génétiques et dynamiques sociales au CIRAD-Forêt, Montpellier, pour son inestimable contribution à la l'élaboration et à la mise en œuvre des différents essais et pour ses conseils avisés.

Je tiens à remercier le Dr Moctar Sacandé, Coordonnateur International du MSB Project pour l'Afrique, dont l'engagement personnel et la contribution scientifique ont été déterminants dans la finalisation de ce travail.

Je remercie le Dr Jean-Marc Bouvet, Chef de l'unité Diversité génétique et amélioration des espèces forestières au CIRAD-Forêt, qui a bien voulu accepter de faire des commentaires sur le chapitre relatif à la Diversité Génétique.

J'adresse mes remerciements au Directeur Général du CNSF, Moussa Ouédraogo ainsi qu'aux autres collègues pour leur soutien et leurs encouragements. Je remercie par ailleurs les collègues des institutions forestières partenaires des différents pays (Bénin, Côte d'Ivoire, Cameroun, Ghana, Guinée, Mali, Niger, Nigeria, Sénégal, Tchad, Togo) pour leur participation à la récolte des semences de *Parkia biglobosa* ayant servi à mon travail.

Je suis également reconnaissant au personnel de l'ex Département de Phytotaxonomie de l'Université de Wageningen (actuel Groupe de Biosystématique), qui m'a témoigné son soutien et sa sympathie durant mon séjour audit Département.

Je remercie le Dr Zewge Teklahaimanot, anciennement Coordonnateur de l'ex-projet sur *Parkia biglobosa*, pour les différents arrangements entrepris en vue de la bonne exécution matérielle et scientifique du travail.

J'exprime ma gratitude au Dr Michiel van Slageren, précédemment Coordonnateur International du MSB Project pour le Burkina Faso et au Dr Hugh Pritchard, Responsable de la section Recherche au Département de Conservation des Semences (RBG Kew), pour leurs encouragements.

Je suis redevable à Marjo Buitelaar (maintenant Mme Wieringa) et à Denis Dipama pour leur remarquable contribution aux manipulations d'électrophorèse, respectivement au Laboratoire de Biosystématique de l'Université de Wageningen et au Laboratoire du Centre National de Semences Forestières. Je remercie également Servais Kedem qui a réalisé avec beaucoup d'application les observations phénologiques pendant deux saisons.

Au moment où je finalise ce travail, j'ai une pensée pour la mémoire du regretté Abdou Salam Ouédraogo. Ayant perçu très tôt les enjeux d'une gestion rationnelle des ressources génétiques forestières en général et de celles de *Parkia biglobosa* en particulier pour un développement durable de l'Afrique de l'Ouest, il est à l'origine de mon engagement dans cette « passionnante aventure », dans le prolongement du chantier qu'il avait lui-même ouvert.

Je remercie chaleureusement les personnes suivantes, qui ont eu à me témoigner leur amitié et leur soutien: Edu Boer, Marie-Hélène Chevallier, Valérie Curtis, Anne de Fraiture, Abdoulaye, Boureima et Fati Kantagba, Roger Kedem, Pierre Sina, Flavien Soubéiga et Sylvie Christiane Yaméogo. Xander van der Burgt a rédigé la mise en page final.

Enfin je voudrais témoigner ma reconnaissance à mes parents pour tous les sacrifices consentis à mon endroit ainsi qu'à la famille Kantagba à Fada N'Gourma pour m'avoir « adopté », et adresser mes remerciements affectueux à Alima, Madina et Naïma, mon épouse et mes filles pour leur patience et leur soutien.

Curriculum vitae

Sibidou Sina est né le 23 septembre 1960 à Fada N'Gourma, Burkina Faso. Après des études primaires à Fada N'Gourma et secondaires au Lycée Philippe Zinda Kaboré à Ouagadougou, il est admis en 1981 à l'ex Institut Supérieur Polytechnique de l'Université de Ouagadougou où il obtient le diplôme d'Ingénieur des Techniques du Développement Rural, Option Eaux et Forêts. De 1991 à 1992, il est inscrit à l'Université Henry Poincaré de Nancy I en France où il obtient le Diplôme d'Etude Approfondie de Biologie Forestière, Option Génétique.

C'est en 1986 qu'il intègre le Centre National de Semences Forestières et est nommé Chef de Service Prospection et Récolte. Il y occupera ensuite de 1997 à 1998 et de 2003 à 2004 la position de Chef de la Division Recherche Appliquée et de 1999 à 2001 la responsabilité de Coordonnateur National du Projet de recherche-développement de l'Union Européenne (TS3* CT92-0072) intitulé: « Gestion Améliorée des parcs agroforestiers en Afrique Sub-saharienne ».

Engagé dans la thèse de doctorat à l'Université de Wageningen, il restera parallèlement fortement impliqué dans les activités relatives à la conservation des ressources génétiques forestières au niveau national et régional. A ce titre, il a participé à de multiples rencontres régionales et internationales et contribué à la formation de nombreux cadres forestiers de la sous région ouest africaine en matière de récolte de semences et de conservation et d'utilisation durable des ressources génétiques.

Sibidou Sina est marié à Alima et ils ont deux filles Madina et Naïma.

Publications

- Sina S** (1989). *Acacia senegal* (gommier) au Burkina Faso (pp. 9-24). In: Actes du troisième Symposium sous Régional sur le gommier et la gomme arabique - Saint Louis (Sénégal) - ISRA-IDRC.
- Sina S** (1990). Semences Forestières au Burkina Faso. Communication présentée à l'atelier régional sur les semences forestières. CILSS. 17p.
- Sina S** (1991). Observation sur la phénologie d'*Acacia albida* à Kokologho, Burkina Faso. In: Proceedings du séminaire sur la physiologie des ligneux en zone aride. Paris & Nancy.
- Sina S** (1991). Phénologie: méthodes d'études. Laboratoire d'Ecologie, ORSTOM, Dakar et CNSF, Ouagadougou. 11p.
- Sina S** (1992). Contribution à l'étude de la variabilité génétique de *Acacia albida*. Apport du polymorphisme enzymatique. Diplôme d'Etude Approfondie (DEA). UFR Sciences et Techniques biologiques, Université de Nancy I, 42p.
- Sina S** & Balima R (1998). Méthodologie d'échantillonnage et procédures pratiques de récolte de semences. In: Ouédraogo AS & Boffa JM (eds) Vers une approche régionale des ressources génétiques en Afrique Sub-Saharienne. Actes du premier atelier régional de formation sur la conservation et l'utilisation durable des Ressources Génétiques Forestières en Afrique de l'Ouest, Afrique Centrale et Madagascar, 16-27 Mars 1998, Ouagadougou. CNSF/IPGRI/FAO, Danida Forest Seed Center, pp. 138-145.
- Sina S** & Belem B (2002). Les produits forestiers non ligneux au Burkina Faso: Utilisations et commercialisation. Tree Aid NGO. 21p.
- Sanou H, Kambou S, Teklehaimanot Z, Dembélé D, Yossi H, **Sina S**, Djingdia L & Bouvet JM (2004). Vegetative propagation of *Vitellaria paradoxa* by grafting. *Agroforestry Systems* 60: 93-99.
- Sina S** (2004). Les gommiers et la gomme au Burkina Faso: état des connaissances et perspectives d'avenir. Projet FAO, TCP/RAF/2914, « Amélioration de la production et de la qualité des gommés et résines en Afrique » 128 pp.
- Sina S** & Belem B (2005). La politique forestière au Burkina Faso: apport de la recherche. In: Reenberg A & Marcussen HS (eds) Bridging Research and Policy. Proceedings of the Danish Sahel Workshop, 2-3 December 2004 at Ouagadougou (BF). SEREIN (Sahel-Sudan Environmental Research Initiative) - Occasional Paper No.18. pp. 155-167.

Liste des sigles et acronymes

AFLP	Amplified fragment length polymorphism
ARSF	Antenne Régionale de Semences Forestières
CIFOR	Centre international de recherche forestière
CNRST	Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique
CNSF	Centre National de Semences Forestières
CIRAD	Centre International de Recherche Agronomique pour le Développement
CIRAF	Conseil international pour la recherche en agroforesterie
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'alimentation
FRIN	Forestry Research Institute of Nigeria
HR	Humidité Relative
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
INERA	Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles
IUCN	Union mondiale pour la nature/Union internationale pour la conservation de la nature
IUFRO	Union Internationale des Instituts de Recherche Forestière
MEE	Ministère de l'Environnement et de l'Eau
MLTR	Multilocus mating system program
MSB	Millennium Seed Bank, Wakehurst & Kew
PNUE	Programme des Nations Unies pour l'Environnement
SAFORGEN	Sub-Saharan African Forest Genetic Resources
SID	Seed Information Database
SIL	Summer Institute of Linguistics
RAPD	Randomly amplified polymorphic DNA
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RBG Kew	Royal Botanic Gardens Kew
TE	Teneur en eau
WWF	World Wide Fund for Nature

Liste des figures et tableaux

Figure 1.1.	Distribution géographique de <i>Parkia biglobosa</i>	6
Figure 2.1a.	Répartition spatiale des arbres de Nagaré	16
Figure 2.1b.	Répartition spatiale des arbres de Bissighin	17
Figure 2.2.	Diagramme floral des populations de Bissighin et de Nagaré	21
Figure 3.1.	Répartition spatiale du nombre d'allèles par locus	42
Figure 3.2.	Répartition spatiale du polymorphisme	42
Figure 3.3.	Répartition spatiale de l'hétérozygotie	43
Figure 4.1.	Effets des prétraitements sur les lots d'âge différents de <i>Parkia biglobosa</i>	58
Figure 4.2.	Taux de germination de graines de 15 descendants de la population de Gaoua	61
Figure 4.3.	Meilleurs taux de germination des graines de <i>Parkia biglobosa</i> en fonction de leurs teneurs en eau	61
Figure 4.4.	Isotherme d'absorption de <i>Parkia biglobosa</i>	62
Figure 5.1.	Comparaison de la répartition de la richesse allélique et de la répartition de l'hétérozygotie	71
Figure 5.2.	Répartition des 3 régions de récolte de <i>Parkia biglobosa</i> au Burkina Faso	75
Tableau 2.1.	Indice de synchronisme floral de quelques arbres	23
Tableau 2.2.	Paramètres du système de reproduction de <i>Parkia biglobosa</i>	23
Tableau 2.3.	Fréquences alléliques du pollen et des ovules	24
Tableau 3.1.	Coordonnées géographiques des 64 populations analysées	34
Tableau 3.2.	Paramètres de diversité génétique intra-population	44
Tableau 3.3.	F-statistiques	46
Tableau 4.1.	Etat des différents lots en conservation	59
Tableau 4.2.	Germination des graines de 23 populations sélectionnées	60
Tableau 5.1.	Richesse allélique des populations de <i>Parkia biglobosa</i>	71
Tableau 5.2.	Echantillon de 11 populations sélectionnées pour la conservation	74
Tableau 5.3.	Guide pratique d'échantillonnage des espèces soudano-sahéliennes	80

Annexe 1a: Génotypes maternels de Nagaré

Arbres	aap2	aap3	acp3	acp4	skd
NR001	22	22	33	12	22
NR003	22	12	33	11	12
NR004	22	22	33	12	12
NR005	22	12	33	12	12
NR006	22	12	33	12	25
NR007	22	22	33	12	12
NR008	22	23	33	11	12
NR011	22	22	23	12	12
NR012	12	23	33	11	25
NR013	22	23	33	11	12
NR015	22	22	23	11	12
NR017	12	22	33	11	22
NR018	22	22	23	11	12
NR019	22	12	33	11	11
NR020	22	23	23	11	23
NR021	22	24	22	11	23
NR022	22	12	33	11	12
NR023	22	22	33	11	12
NR024	12	12	33	13	12
NR025	22	22	33	11	12
NR028	12	23	33	11	12
NR030	22	22	33	12	12
NR031	22	12	33	11	23
NR032	22	12	33	11	22
NR033	22	23	33	11	12
NR034	22	23	33	11	12
NR035	22	22	33	11	12
NR036	22	12	23	13	22
NR037	12	12	23	11	12
NR038	23	22	23	13	12
NR040	22	22	33	11	13
NR042	22	23	23	11	13
NR043	22	12	33	12	12
NR041	22	23	23	11	11
NR044	23	12	33	11	12
NR045	22	22	33	12	12
NR046	22	33	13	11	12
NR047	12	12	33	12	12
NR048	22	22	33	12	12
NR049	22	12	33	12	12
NR050	22	23	33	11	12
NR051	23	22	33	12	11
NR058	22	22	33	13	22
NR059	22	12	33	12	22
NR060	22	23	33	12	12
NR062	22	12	23	12	12
NR064	22	22	23	11	12
NR065	22	22	33	12	11
NR066	22	12	23	12	24
NR067	22	22	33	11	12
NR069	22	22	23	12	11
NR070	22	22	33	11	12
NR072	22	22	33	11	12
NR074	22	12	33	13	23
NR075	22	12	33	12	12
NR076	22	23	23	11	12
NR077	22	23	33	12	12
NR079	23	23	33	11	12
NR084	22	12	23	12	23
NR086	12	12	33	12	12
NR087	22	12	33	12	12
NR088	12	22	23	12	12
NR089	23	12	33	11	23
NR091	22	22	33	12	23
NR092	22	23	23	13	23
NR090	23	22	33	13	12
NR093	12	22	33	12	12
NR094	22	12	33	12	25
NR096	22	12	13	23	15
NR098	22	22	33	11	12
NR099	22	22	33	11	12
NR100	23	22	33	12	12
NR101	23	22	33	11	12
NR103	23	22	23	11	11

Arbres	aap2	aap3	acp3	acp4	skd
NR104	23	22	24	11	12
NR106	22	22	23	12	12
NR108	22	23	33	11	12
NR109	22	22	23	11	11
NR110	22	33	33	11	22
NR111	12	23	33	12	22
NR112	23	22	33	11	22
NR113	22	22	33	11	12
NR114	22	12	33	11	22
NR115	22	22	33	12	22
NR116	23	22	33	13	12
NR117	22	22	33	11	12
NR119	22	22	33	11	23
NR121	22	33	33	11	12
NR122	23	23	33	11	14
NR123	22	22	33	11	24
NR124	22	23	33	11	13
NR125	22	22	33	11	12
NR129	22	23	33	13	12
NR131	22	22	33	11	12
NR132	22	22	33	11	11
NR133	22	23	33	11	13
NR134	22	33	33	11	24
NR135	22	23	33	11	12
NR136	22	33	33	11	22
NR137	23	33	33	11	12
NR141	23	33	33	11	11
NR142	23	33	33	12	12
NR144	23	22	33	11	12
NR145	23	22	33	11	11
NR146	23	22	33	12	12
NR147	22	22	33	11	12
NR148	22	22	33	11	12
NR150	22	23	33	11	12
NR151	22	22	23	12	12
NR152	22	33	33	11	12
NR153	22	22	23	12	11
NR154	22	22	23	11	12
NR155	22	22	23	11	22
NR156	22	22	23	11	12
NR157	22	22	23	13	22
NR158	22	22	33	11	12
NR159	22	22	33	11	12
NR160	22	22	33	11	23
NR161	22	22	33	11	11
NR167	22	22	33	11	12
NR162	22	23	33	11	12
NR163	23	22	33	11	12
NR164	22	22	33	12	12
NR165	24	22	33	11	12
NR166	22	22	33	12	12
NR168	22	22	23	12	22
NR173	22	22	23	12	22
NR177	22	22	33	11	23
NR178	22	22	33	11	22
NR180	12	22	33	11	12
NR181	22	22	33	11	12
NR182	23	22	33	11	12
NR183	22	23	33	13	12
NR185	22	22	33	11	22
NR187	22	22	23	11	11
NR189	22	22	33	11	12
NR190	22	23	33	11	22
NR191	22	22	22	12	24
NR192	22	23	33	11	12
NR193	22	23	33	22	12
NR194	22	22	23	11	12
NR197	23	23	33	13	11
NR198	22	22	23	13	24
NR199	22	22	33	11	12
NR200	23	22	33	13	12
NR205	22	22	33	11	12
NR209	22	23	33	11	12
NR208	22	22	33	12	12

Annexe 1b: Génotypes maternels de Bissighin

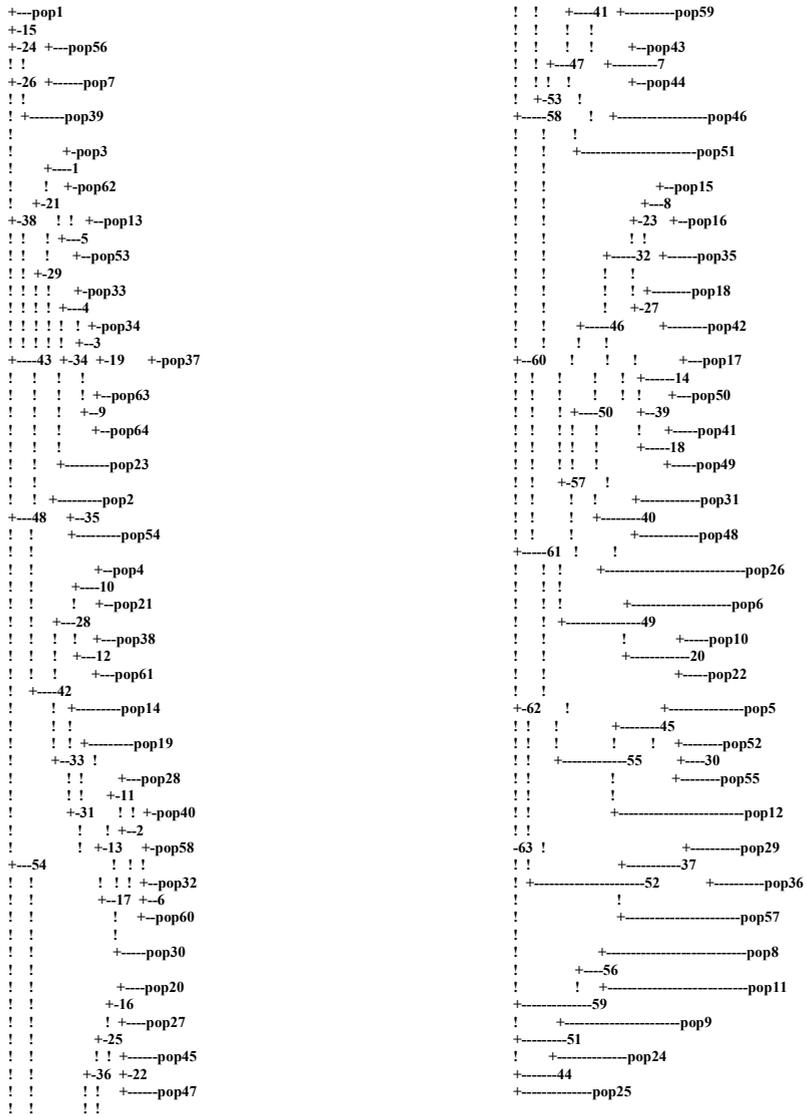
Arbres	aap2	aap3	acp3	acp4	skd
B004	23	12	23	12	12
B007	23	12	23	12	12
B008	22	22	22	22	12
B010	23	22	33	23	22
B009	22	23	23	12	23
B011	23	23	23	11	12
B012	22	22	23	12	22
B013	22	12	23	12	12
B014	22	22	23	22	12
B016	23	23	33	12	12
B017	22	22	33	12	12
B018	23	23	23	12	12
B019	22	12	12	11	22
B020	22	12	23	12	23
B021	22	23	33	15	12
B022	23	22	23	12	12
B023	22	12	23	12	12
B024	22	23	23	12	23
B026	22	22	22	12	22
B029	22	23	22	22	22
B030	22	22	23	12	22
B033	22	23	22	12	23
B037	22	22	23	12	22
B042	22	22	23	12	12
B048	22	22	33	22	22
B049	22	23	33	22	22
B050	22	22	33	12	22
B052	22	22	33	11	22
B051	22	22	12	12	22
B053	22	23	33	12	12
B056	22	22	22	13	23
B057	22	22	23	23	24
B058	22	13	22	23	12
B059	22	22	33	22	12
B060	22	12	22	12	12
B061	22	22	33	12	12
B062	23	22	33	13	12
B063	22	22	12	23	25
B064	22	22	22	22	12
B065	22	22	33	11	24
B067	22	22	23	12	24
B068	22	22	33	12	12
B070	22	12	23	12	12
B071	22	12	23	12	22
B072	22	22	33	11	22
B076	22	22	33	22	12
B077	22	22	33	23	22
B078	22	22	22	22	12
B079	22	22	22	22	22
B080	22	22	23	12	12
B081	22	23	33	12	22
B082	23	22	23	12	22
B083	22	23	33	11	22
B084	22	22	22	23	22
B085	22	22	22	12	22
B086	22	22	23	12	22
B087	22	22	33	11	22
B088	22	22	33	12	11
B090	22	22	23	12	12
B092	22	12	33	11	12
B093	22	22	23	12	12
B094	22	22	23	11	22

Arbres	aap2	aap3	acp3	acp4	skd
B098	22	22	23	11	22
B099	22	23	12	11	22
B100	22	33	12	12	22
B101	22	33	12	25	22
B103	22	22	23	12	12
B104	23	22	23	22	12
B105	23	22	23	22	12
B106	22	22	33	12	12
B107	22	22	33	23	22
B109	22	22	23	12	12
B108	22	22	33	12	22
B118	33	22	23	22	22
B119	33	22	33	23	22
B120	23	12	23	22	22
B122	22	12	33	22	22
B124	22	12	12	12	12
B127	23	22	23	23	22
B129	33	22	23	22	22
B128	23	22	22	22	23
B140	22	22	23	11	22
B142	22	12	23	12	23
B143	22	22	33	12	23
B145	23	22	23	12	23
B148	22	22	11	12	12
B151	23	22	23	23	22
B152	33	22	12	22	33
B153	23	22	22	22	23

Annexe 2: Fréquences alléliques des populations étudiées

Locus	Darsalamy	Bafilo	Nafegue	WourouW	Konkoure	Dabola 1	Baria	Auchi	Kaka Sakara	Dambaï
Aap2										
Allèle 1	0.069	0.083	0.020	0.095	0.069	0.087	0.074	0.063	0.038	0.050
Allèle 2	0.879	0.771	0.820	0.595	0.707	0.652	0.778	0.781	0.808	0.825
Allèle 3	0.052	0.146	0.160	0.286	0.190	0.261	0.148	0.156	0.154	0.125
Allèle 4				0.024	0.034					
Aap3										
Allèle 1			0.201	0.055	0.125			0.100	0.021	
Allèle 2	0.617	0.875	0.896	0.750	0.675	0.739	0.685	0.800	0.917	0.833
Allèle 3	0.383	0.083	0.083	0.167	0.150	0.261	0.259	0.100	0.062	0.111
Allèle 4		0.042		0.028	0.050		0.056			0.056
Acp 3										
Allèle 1	0.086		0.136	0.024	0.035		0.060	0.167		0.071
Allèle 2	0.793	0.444	0.750	0.881	0.741	0.796	0.660	0.714	0.667	0.167
Allèle 3	0.121	0.556	0.114	0.095	0.224	0.204	0.280	0.119	0.333	0.762
Acp 4										
Allèle 1	0.120	0.364	0.167	0.219	0.333	0.152	0.334	0.227	0.304	0.237
Allèle 2	0.793	0.364	0.667	0.656	0.625	0.804	0.583	0.704	0.609	0.605
Allèle 3	0.069	0.227	0.119	0.125	0.042	0.022	0.062	0.023	0.087	0.105
Allèle 4	0.017	0.045				0.022	0.021	0.046		0.026
Allèle 5			0.047				0.042			0.026
Allèle 6							0.042			
Pgd										
Allèle 1	0.333	0.300	0.020		0.052	0.040	0.037	0.071	0.260	0.316
Allèle 2	0.667	0.680	0.820	1.000	0.896	0.960	0.944	0.905	0.740	0.684
Allèle 3		0.020	0.160		0.052		0.019	0.024		
Prx 1										
Allèle 1	0.017	0.020								
Allèle 2	0.983	0.980	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Prx2										
Allèle 1	0.067								0.019	0.048
Allèle 2	0.933	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.981	0.952
Skd										
Allèle 1	0.067	0.068		0.278	0.292	0.023		0.205	0.100	0.300
Allèle 2	0.683	0.409	0.526	0.528	0.604	0.432	0.083	0.636	0.580	0.400
Allèle 3	0.183	0.364	0.448	0.139	0.083	0.454	0.667	0.159	0.320	0.300
Allèle 4	0.067	0.159	0.026	0.055	0.021	0.068	0.194			
Allèle 5						0.023	0.028			
Allèle 6							0.028			

Annexe 3: Dendrogramme des populations (distance de Nei (1972))



Imprimé par:
Propress b.v.
Wageningen, Pays Bas