UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2013 N° d'ordre : 75



THESE DE DOCTORAT

En Biologie-Physiologie et Pathologies Végétales Spécialité : Ecologie et Agroforesterie

Présentée par

Bassiaka OUATTARA

Etude de la diversité génétique, de la variabilité agro-morphologique et écophysiologique de *Jatropha curcas* L. au Sénégal

Soutenue le 28 décembre 2013 devant la commission d'examen composée de :

Président :	M. Léonard Elie	AKPO	Professeur Titulaire	UCAD
Rapporteurs	M. MBacké	SEMBENE	Professeur Titulaire	UCAD
	M. Djibril	SANE	Maître de Conférences	UCAD
	M. Abdoulaye	DIENG	Maître de conférences	UT
Examinateurs	M. Diaga	DIOUF	Professeur Titulaire	UCAD
	M. Ibrahima	DIEDHIOU	Maître-Assistant	UT
Directeur de thèse :	M. Diégane	DIOUF	Maître de Conférences	UCAD

Dédicaces

A ces braves paysans oubliés des villages lointains A ma Famille, mon épouse, nos enfants Fahtima et Younouss, En hommage à leur patience et à leur soutien constant. Certains d'entre eux comprendront peu de ce document mais les voir le feuilleter est une immense joie

Remerciements

Un travail scientifique, aussi infime soit il, est le fruit d'étroites collaborations entre des institutions et des personnes ; le présent travail ne fait pas exception. C'est pourquoi, je voudrais qu'il me soit autorisé de consacrer ces quelques lignes à témoigner ma gratitude à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réussite de cette thèse.

J'exprime à cet effet ma profonde gratitude au Recteur de l'UCAD, Prof. Saliou NDIAYE, au Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques, Prof. S. Amadou NDIAYE et au chef de département de Biologie Végétale, Prof. Djibril SANE. Je remercie sincèrement Prof. Abdoulaye SAMB, Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences de la Vie de la Santé et de l'Environnement (ED-SEV), qui m'a fait un grand honneur en acceptant mon inscription à l'ED-SEV.

Mon séjour au Sénégal a été possible grâce à la coopération allemande à travers le soutien financier du DAAD (Deutsche Akademischer Austausch Dienst (German academic exchange service). Mes vifs remerciements vont donc à l'endroit du DAAD et à tous ceux qui ont fait en sorte que cette prise en charge soit possible. J'exprime ma gratitude à Mme Renate DIACK, attachée des affaires culturelles de l'Ambassade de la République Fédérale d'Allemagne au Sénégal et à Madame Gabi PARMENTIER, Responsable de l'Office Allemand d'Echanges Universitaires. Au-delà, je remercie toutes les personnes qui travaillent dans ladite institution afin de faciliter la rencontre et l'échange entre citoyens de différentes nationalités, d'expériences professionnelles variées et de cultures diverses. Merci à tous.

Le CERAAS était ma structure d'accueil au Sénégal et a joué un rôle de facilitateur dans l'obtention de la bourse DAAD. Je voudrais donc manifester mes sentiments de reconnaissance à l'endroit du Directeur du CERAAS, Dr Ndiaga CISSE, pour les efforts consentis pour m'accueillir dans sa structure. A travers lui, je remercie Dr Ousmane NDOYE et Dr Dogo SECK, tous, ex Directeurs du CERAAS. Aussi, je remercie l'ensemble du personnel (scientifique, administratif et d'appui) du CERAAS qui n'a ménagé aucun effort pour que ce travail aboutisse. Je pense particulièrement: Dr Bertrand MULLER, Dr Codou GUEYE, Dr Daniel FONCEKA, Dr Bassirou SINE, Dr Cheikh THIAW, Dr Amadou SECK, Dr Aliou FAYE, Ir. Marème NIANG, Diariétou SAMBAKHE, M. Mbaye NDOYE, Mlle Sassoum LÖ, M. Amadou KANDJI, Mlle Mariama SENGHOR, Mme Thérèse FAYE, Mme Aida FAYE GUEYE, M. Cheikhou DRAME, Mlle Khady DIOP, M. Tossim Hodo ABALO, M. Malick NDIAYE, Mme Joséphine FAYE FOFANA (Sosso), feu M. Edouard NDOYE, M. Pa Elimane, M. Idrissa CISSE, M. Ousmane FAYE, M. Maha DEMBELE et M. Ali Egué KA. J'associe à ce remerciement les étudiants stagiaires que j'ai côtoyés au Ceraas : Malick S., Magatte D., Aïssatou S., Allassane N., Néné T. Je n'oublie pas les techniciens et ex techniciens de Bambey, notamment M. Sidy SIDIBE, M. Abdou FAYE, M. Cheikh SENE, M. Ibrahima NDONG, M. Amadou DIOP et tous leurs camarades.

Ce travail a été initié dans le cadre du projet RIPIECSA *Jatropha curcas* intitulé « Impacts potentiels de l'introduction de *Jatropha curcas* L. dans un contexte de variabilité et changement climatiques : impacts agricoles et environnementaux, intérêts économiques pour les ménages et communautés rurales ». Je voudrais donc remercier Dr Ibrahima DIEDHIOU, coordonateur de ce projet et par ailleurs Co-encadreur de ce travail. Nous avons passé des moments agréables, souvent tendus, mais toujours instructifs et j'ai beaucoup appris de lui. Aussi, je voudrais remercier Dr Khadidiatou NDOYE NDIR pour son encadrement technique et ses conseils si précieux. Elle a toujours su me remonter le moral dans les moments où j'étais à bout de souffle ; merci Mme NDIR.

J'exprime ma profonde gratitude et ma reconnaissance au Prof. Diégane DIOUF Directeur de thèse de ce travail. Il a toujours répondu favorablement à mes sollicitations et son assistance scientifique a été déterminante dans ce travail. Je remercie par ailleurs le Prof. E. L. AKPO, Directeur de la formation doctorale « Ecologie et Agroforesterie » et par ailleurs associé formellement à ce travail. Professeur, j'ai bien apprécié l'effort que vous avez consenti à ce travail qui jouit de votre empreinte singulier. Mes remerciements vont aussi à l'endroit du Prof. J. D. ZONGO qui a accepté apporter son aide à la réalisation de ce travail toute les fois que je l'ai sollicité.

A Messieurs les membres du jury, particulièrement aux Prof. Mbacké SEMBENE et Djibril SANE tous deux rapporteurs de cette thèse et au Prof. Diaga DIOUF, examinateur, merci pour avoir planché sur le manuscrit, animé la discussion, éclairé et enrichi ce travail.

Mes vifs remerciements vont à l'endroit de mes professeurs de la faculté des sciences et techniques. Qu'il me soit permis de remercier mes enseignants de L'UFR/SVT de l'université de Ouagadougou : Pr A.TRAORE, Pr A.S. OUATTARA, Pr P. SANKARA, Pr J.I. BOUSSIM, Pr BARRO, Pr ZEBA, Pr M. DICKO, Pr P. NIKIEMA Pr G. ZOMBRE, Dr M. BENGALY de m'avoir appris à faire mes premiers pas dans le domaine des sciences expérimentales.

J'adresse également mes remerciements aux ex doctorants et doctorants du CERAAS : R. BAYALA, B. NOUHOUN, B. SEYNI, S. SEYNI, N. B. MBENGUE, L. A. TOUMNOU, P. KOUAKOU, P. M. KOUAKOU, T. TOVIGNAN, R. NGUEPJOP, M. HALIME, N. ZOSSOU, A. BODJAN (Que j'appelle amicalement « partenaire »). Merci à tous pour vos soutiens divers et les moments agréables passés ensemble.

Merci à mes chers promotionnaires, amis, et proches au Burkina, vos soutiens multiformes ont été cruciaux. Je me garde de citer des noms de peur d'en oublier, mais que tout un chacun trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Toutes les louanges sont à ALLAH (SW) sans qui rien de tout ce qui a été fait ne serait possible. Paix sur l'Imam des envoyés Mohamed (SAW).

Table des matières

Pricincipaux sigles et abbréviations	4
Liste des figures	6
Liste des tableaux	6
Liste des photos	7
Résumé	8
Summary	9
INTRODUCTION GENERALE	10
CHAPITRE 1	13
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	13
1.1 Brève présentation du Sénégal	13
1.2 Les biocarburants	18
1.3 Présentation de Jatropha curcas L	20
1.4 Marqueurs moléculaires	26
1.5 Mesure de la diversité génétique	30
1.6 Marqueurs génétiques et diversité génétique de J. curcas	31
CHAPITRE 2	33
ZONES DE DIFFUSION ET VARIABILITE MORPHO-METRIQU	
DE JATROPHA CURCAS L. AU SENEGAL	33
2.1 Introduction	34
2.2 Matériel et méthodes	35
3.3 Analyse statistique	37
3.4 Résultats	37
3.5 Discussion	41
3.6 Conclusion	43

CHAPITRE 3	45
COMPORTEMENT GERMINATIF D'ACCESSIONS LOCALES DE JATRO CURCAS L	
3.1 Matériel et méthodes	47
3.1.1. Expérimentation 1 : Analyse comparative de la capacité germinative de différentes accession curcas collectées au Sénégal	
3.1.1. Expérimentation 2 : Effet du régime hydrique et du prétraitement des graines sur la germir différentes accessions locales de <i>J. curcas</i> L	
3.2 Analyse statistique	50
3.3 Résultats	50
3.4 Discussion	54
3.5 Conclusion	56
CHAPITRE 4	57
ANALYSE DE LA DIVERSITE GENETIQUE D'ACCESSIONS LOCALES I JATROPHA CURCAS L. DU SENEGAL A L'AIDE DE MARQUEURS	ЭE
MICROSATELLITES	57
4.1 Matériel et méthodes	60
4.2 Résultats	67
4.3 Discussion	71
4.4 Conclusion	73
CHAPITRE 5	74
EVALUATION DU FONCTIONNEMENT DE <i>J. CURCAS</i> SOUS DIFFERE CONDITIONS D'ALIMENTATION HYDRIQUE ET DE LA DEMANDE	ENTES
ATMOSPHERIQUE	74
5.1 Matériel et méthodes	76
5.2 Analyse statistique	80
5.2 Résultats	81
5.2.1 La transpiration foliaire en réponse au déficit de pression de vapeur (VPD) 3 mois après sen	nis81

5.3 Discussion	39
5.4 Conclusion9)1
CHAPITRE 69	3
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES9	3
6.1 Variabilité morpho-métrique des graines et zones de diffusion des anciennes plantations de <i>Jatropha</i> curcas L	94
6.2 Comportement germinatif de <i>J. curcas</i> 9	€
6.3 Analyse de la Diversité génétique de <i>J. curcas</i> L. au Sénégal à l'aide de marqueurs microsatellites9	€
6.4 Paramètres physiologiques et de croissance de <i>J. curcas</i> L. en conditions de déficit hydrique et de la variation de la demande atmosphérique9) 6
6.5 Possibilités d'amélioration de <i>J. curcas</i> à travers le matériel local9	96
RECOMMANDATIONS9	7
PERSPECTIVES9	8
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES10	0

Pricincipaux sigles et abbréviations

ul: Microlitre

ADN: Acide désoxyribonucléique

AFLP. Amplified Fragment Length Polymorphism

CERAAS. Centre d'Etude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse

CIRAD: Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement

CNRA: Centre national de recherches agronomiques

CTAB. Cethyl-Trimethyl-Ammonium Bromure

DAAD: Deutscher Akademischer Austausch Dienst (German academic exchange service)

dNTP. Désoxynucléotide triphosphate

EDTA. Ethylènediamine tétracétale

ENSA. Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture

FAO: Food and agriculture organization

FST: Faculté des sciences et techniques

IRAT : Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures Vivrières

LAI: Leaf area index ou indice de surface foliaire

NaOH: hydroxyde de sodium

ng. nanogramme

ONG: Organisation non gouvernementale

PCR. Polymerase Chain Reaction

QTL. Quantitative Trait Loci

RAPD. Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP. Restriction Fragment Length Polymorphism

SLA: Specific leaf area ou surface foliaire spécifique

TBE. Tampon Tris-Borate EDTA

TE. Tris EDTA

Tris. Tris hydroxyméthyl aminométhane

UCAD : Université Cheikh Anta Diop de Dakar

UEMOA : Union Economique et Monétaire Ouest Africaine

Liste des figures

Figure 1.1. Carte des zones climatiques du Sénégal réalisée sur la base du bilan hydrique (Sarr et al., 2005	\tilde{o}
	16
Figure 1.2. Schéma de fabrication du biodiesel et de l'éthanol (MDRA, 2007)	19
Figure 1.3. Origine et zones de diffusion de <i>J. curcas</i> à travers le monde (Heller 1996)	23
Figure 1.4. Schéma de différentes techniques de marquage moléculaire (Najimi et al., 2003)	28
Figure 2.1. Zones agro-écologiques du Sénégal et sites de collecte. Carte adaptée de la carte du centre	
national de suivi écologique (CSE, 1996)	36
Figure 2.2. Répartition des plantations de J. curcas âgées de plus de 5 ans en 2010 au Sénégal.	38
Figure 2.3. Dendrogramme construit sur la base des traits des graines de 19 accessions de <i>J. curcas</i>	
collectées au Sénégal	41
Figure 3.1. Pourcentage final de germination des accessions de J. curcas enregistré 14 jours après semis	51
Figure 3.2. Interaction entre l'accession et le prétraitement des graines sur le temps moyen de germinatie	
(TMG).	52
Figure 3.3. Effet du régime hydrique sur le temps moyen de germination (TMG) de graines de J. curcas.	53
Figure 3.4. Effet du prétraitement des graines sur le pourcentage de germination	
Figure 3.5. Effet du régime hydrique sur le pourcentage de germination.	54
Figure 4.1. Carte de diffusion de J. curcas des caraïbes au Cap vert et en Guinée Bissau et sites de collecte	3
de <i>J. curcas</i> dans différentes zones agro écologiques au Sénégal.	64
Figure 5.1. Transpiration horaire (Tr) et le déficit de pression de vapeur (VPD) au cours de la journée	82
Figure 5.2. Transpiration journalière des plants irrigués de 6 accessions de J. curcas 3 mois après semis	82
Figure 5.3. Evolution du taux de transpiration des plants de J. curcas en fonction de la FTSW (données d	le 6
accessions de Jatropha, 3 mois après semis).	84
Figure 5.4. Relation entre la surface foliaire et la matière sèche foliaire	
Figure 5.5. Relation entre les matières sèches racinaires et aériennes	88
Liste des tableaux	
Tableau 1.1. Noms vernaculaires de <i>J. curcas</i> dans différents pays (Source Divakara et al., 2009)	20
Tableau 1.2. Comparaison des propriétés de l'huile de <i>J. curcas</i> à celles d'autres carburants	25
Tableau 2.1. Cordonnées géographiques et caractéristiques climatiques des sites de collecte de <i>J. curcas</i>	36
Tableau 2.2. Caractéristiques des graines et ratio graines/fruits des 19 accessions de J. curcas L	39
Tableau 2.3. Estimation des variables génétiques des traits des graines des accessions de <i>J. curcas</i>	40
Tableau 2.4. Coefficient de corrélation de Pearson entre les traits des graines de J. curcas	41
Tableau 3.1. Origines et dates de récolte des accessions de <i>J. curcas</i> utilisées	49
Tableau 3.2. Caractéristiques des graines de J. curcas utilisées.	
Tableau 3.3. Résultat de l'analyse de la variance au seuil de 5%	
Tableau 3.4. Résultats de l'Analyse de variance réalisée sur le taux et le pourcentage de germination	
Tableau 4.1. Origine des accessions de <i>J. curcas</i> utilisées	
Tableau 4.2. Caractéristiques des séquences microsatellites étudiées	
Tableau 5.1. Origines et caractéristiques des graines des six accessions de <i>J. curcas</i> (± erreur standard sur	
moyenne)	

Tableau 5.2. Variations des paramètres physiologiques et de croissance des plants de J. curcas en fonction
des accessions 3 mois après semis en conditions d'alimentation hydrique non limitative
Tableau 5.3. Les seuils de FTSW à partir desquels la transpiration a décliné pour les six accessions de J.
curcas
Tableau 5.4. Effet du stress hydrique sur la croissance et la teneur en eau des tiges des plants de J. curcas 85
Tableau 5.5. Production de biomasse des 6 accessions de J. curcas après 4 mois de croissance
Tableau 5.6. Corrélation des paramètres de croissance
Liste des photos
Liste des photos Photo 1.1. Arbuste de <i>J. curcas</i>
Photo 1.1. Arbuste de <i>J. curcas</i>

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

THESE DE DOCTORAT

En Biologie-Physiologie et Pathologies Végétales Spécialité : Ecologie et Agroforesterie

Résumé

Nom et prénoms du Candidat : OAUTTARA Bassiaka

<u>Titre de la thèse</u>: Etude de la diversité génétique, de la variabilité agro-morphologique et écophysiologique de *Jatropha curcas* L. au Sénégal

Date et lieu de soutenance : 28 décembre 2013, Ucad, Faculté des Sciences et Techniques, Amphi 5.

Jury:	Président :	M. Léonard Elie	AKPO	Professeur Titulaire	UCAD
	Membres	M. MBacké	SEMBENE	Professeur Titulaire	UCAD
		M. Djibril	SANE	Maître de Conférences	UCAD
		M. Diaga	DIOUF	Professeur Titulaire	UCAD
		M. Ibrahima	DIEDHIOU	Maître-Assistant	UT
		M. Diégane	DIOUF	Maître de Conférences	UCAD

Résumé: Au Sénégal, l'intérêt manifesté pour Jatropha curcas L. (J. curcas) résulte de la volonté de l'Etat de réduire sa dépendance vis-à-vis des énergies fossiles, en développant des sources d'énergie alternatives pour satisfaire la demande énergétique nationale et réduire sa facture pétrolière. Toutefois, le manque de matériel végétal adéquat risque de compromettre l'espoir suscité par la culture de J. curcas. La caractérisation du matériel végétal local peut aider à dégager des pistes d'amélioration de l'espèce. Ainsi, nous avons collecté et caractérisé 82 accessions de J. curcas issues de différentes zones agro-écologiques du Sénégal. Le poids 100 graines a varié de 63,68 à 77,83 g et la longueur de 17,89 à 19,15 mm avec les valeurs les plus élevées enregistrées dans les accessions de la Casamance où J. curcas est populaire et largement répandu. La capacité germinative des graines a varié de 0 à 93% suivant les accessions et les meilleures germinations ont été observées avec les graines les plus pesantes. Sur un substrat sablo-argileux, la capacité germinative des graines de J. curcas est améliorée par l'immersion dans l'eau, 12 heures avant semis, et le maintien du substrat à 50% de la capacité au champ. L'analyse de la diversité génétique à l'aide de 35 marqueurs microsatellites a révélé que les 82 accessions locales ainsi que 21 accessions collectées à travers le monde étaient génétiquement identiques à l'exception de deux accessions du Burkina Faso. La transpiration foliaire a été corrélée positivement à la variation journalière du déficit de pression de vapeur avec un pic moyen de 0,065 g H₂O H⁻¹ cm⁻² enregistré entre 13 h 30 mn et 14 h 30 mn. Le seuil de la fraction transpirable d'eau du sol ou FTSW à partir duquel on a observé une réduction progressive de la transpiration a varié entre 0,30 et 0,44 suivant les accessions. Le stress hydrique a affecté négativement la croissance des plants en limitant le rythme d'émission foliaire et a entrainé la sénescence des feuilles. Le niveau de tolérance à la sécheresse des accessions de J. curcas n'est pas fonction des sites de collecte. L'aptitude de J. curcas à se développer dans différentes zones agroécologiques repose plus sur une forte plasticité écologique que sur de la variabilité génétique ce qui réduit les possibilités d'amélioration à partir du matériel local. L'introduction de nouveaux matériels végétaux à partir du centre d'origine pour élargir la base génétique de l'espèce au Sénégal est à encourager.

Mots clés : *Jatropha curcas*, diversité génétique, microsatellite, germination, traits des graines, transpiration foliaire, Sénégal.

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Ph.D In Biology-Physiology and plant Pathologies Speciality: Ecology and Agroforestry

Summary

First name and last name: Bassiaka OUATTARA

<u>Titre</u>. Genetic diversity, ecophysiological and agromorphological variability of *Jatropha curcas* in Senegal

Date and place of the thesis defense: december 28th 2013, UCAD, FST faculty, Amphi 5.

Jury:	President:	M. Léonard Elie	AKPO	Full Professor	UCAD
	Members	M. MBacké	SEMBENE	Full Professor	UCAD
		M. Djibril	SANE	Associate Professor	UCAD
		M. Diaga	DIOUF	Full Professor	UCAD
		M. Ibrahima	DIEDHIOU	Assistant Professor	UT
		M. Diégane	DIOUF	Associate Professor	UCAD

Summary. In Senegal, the interest for *Jatropha curcas (J. curcas)* comes from the desire to diversify energy sources because of increasing in energy demand and fossil fuel price. Unfortunately, materiel with high agronomic performance is not available making cultivation of *J. curcas* a hazardous business. Characterization of local germplasm can help to define strategies in breeding program in order to develop genotypes with high yield and oil content. A thorough and extensive germplasm survey was undertaken and 82 local accessions of J. curcas were collected and characterized. Seed length varied from 17.89 to 19.15 mm and 100 seed-weight from 63.68 to 77.83 g. High seed traits values were recorded in accessions from Casamance where J. curcas is wide spread. Germination capacity varied from 0 to 93% and highest germination were recorded with heavy seeds. Under sandy-clayey soil, germination of J. curcas are enhanced by immerging seeds in water for 12 hours before sowing and keeping substratum at 50% field capacity. Among 35 microsatellites analyzed, only one was polymorphic with 3 alleles in exotic accessions whereas the 82 Senegalese accessions were identical. Leaf transpiration was positively correlated to natural change in water pressure deficit with the highest value (0.065 g H₂O H⁻¹ cm⁻²) recorded between 13 h 30 mn to 14 h 30 mn. The FTSW (fraction transpirable of soil water) threshold at that leaf transpiration declined varied from 0.30 to 0.44 functions to the accessions. Water stress negatively affected seedling growth by stopping new leaves emission and causing leaves senescence. The accessions didn't show any ability of drought tolerance according to their habitat. Introduce of new materials from the center of origin is crucial to widen the genetic base of *I. curcas* in Senegal.

Key words: *Jatropha curcas*, Genetic diversity, microsatellite, germination, seed traits, leave transpiration, Senegal.

Introduction générale

Dans le monde, plus de 80% des besoins en énergie sont satisfaits par les énergies fossiles (AIE, 2002). Au Sénégal, le secteur énergétique est fortement tributaire du pétrole importé pour satisfaire la demande en énergie, particulièrement en électricité. Le renchérissement intermittent du prix des produits pétroliers occasionne d'énormes difficultés dans l'approvisionnement convenable en électricité, entrainant souvent des soulèvements populaires contre le délestage (Dia et al., 2009). Pourtant des efforts énormes sont consentis pour satisfaire la demande énergétique croissante. A titre d'exemple, de 2000 à 2006 la facture pétrolière du Sénégal est passée de 185 milliards de francs CFA à 384 milliards, puis à 623 milliards en 2008, soit une hausse de plus de 40% en deux ans (Dia et al., 2009). Plus de 46% du revenu des exportations du Sénégal sont mobilisés pour honorer cette facture (SIE, 2007). Le cas du Sénégal est loin d'être unique car de nombreux pays importateurs de pétrole sont confrontés à une situation similaire. C'est pourquoi, plusieurs initiatives nationales et internationales sont entreprises pour réduire la dépendance vis-à-vis des énergies fossiles qui d'ailleurs sont sources de pollutions.

Ainsi, à cause du renchérissement du baril de pétrole et dont l'accès à l'avenir serait incertain, de nombreux pays ont recours aux agro-carburants pour réduire leur dépendance vis-à-vis des énergies fossiles et restreindre leur émission de gaz à effet de serre. Parmi les plantes utilisées dans le domaine des biocarburants, *Jatropha curcas* L. (*J. curcas*) a gagné une attention particulière. Appartenant à la famille des *Euphorbiaceae* et originaire de l'Amérique centrale (Baker, 1877), *J. curcas* est un arbuste qui peut atteindre jusqu'à 10 mètres de hauteur dans certaines conditions climatiques et peut résister au stress hydrique comme aux fortes pluviométries (Katwal et Soni, 2003; Kumar and Sharma, 2008). C'est une espèce résistante à la sécheresse qui est largement cultivée sous les tropiques et adaptée aux sols pauvres (Srivastava, 1999; Openshaw, 2000).

A tort ou à raison, *J. curcas* est présentée comme une plante "miracle". En effet, cette plante fournit divers produits et avantages qui contribuent à la réduction de la pauvreté, notamment la promotion des activités génératrices de revenus essentiellement pour les femmes (vente des graines et de savon), le maintien de la fertilité des sols (par le contrôle de l'érosion par la plantation en haies vives), la valorisation des tourteaux comme engrais organiques (Henning *et al.*, 2005). De tous ces avantages, c'est la richesse de ses graines en huile pouvant être transformée en biodiesel qui lui vaut sa nouvelle notoriété si bien que plusieurs pays se "jettent" sur cette culture désignée comme "l'or vert du désert" (Campa, 2009).

Ainsi, *J. curcas* apparait aujourd'hui comme une opportunité pour les pays en voie de développement, pour améliorer les revenus des agriculteurs, voire stimuler l'économie rurale. En 2007, le Sénégal à l'instar de plusieurs pays de la sous région ouest africaine a pris l'option de promouvoir la filière biocarburant à partir de *J. curcas*. Le programme national biocarburant lancé en 2007 avait pour objectif d'emblaver environ 320 000 ha de plantations de *J. curcas* entre la période 2007-2012 (MDRA, 2007).

Toutefois, le développement de la culture de *J. curcas* est limité par l'insuffisance de données scientifiques sur cette plante. La viabilité de la filière biodiesel à *J. curcas* repose entre autres sur des génotypes de *J. curcas* hautement productifs et riches en huile. Malheureusement, on dispose de très peu d'informations sur le niveau de productivité de *J. curcas* en relation avec ses caractéristiques génétiques et les techniques culturales. Les rendements en graines sont très variables, le plus souvent faibles, faisant ainsi de la culture de *J. curcas* une entreprise risquée. Dès lors, l'identification et l'utilisation de matériel végétal adéquat permettrait d'augmenter significativement le niveau de productivité de *J. curcas*, d'améliorer les revenus des producteurs et booster la filière biocarburant. Dans cette perspective d'amélioration de la productivité de *J. curcas*, l'exploitation de la variabilité

naturelle de l'espèce à travers ses zones de distribution est cruciale. Cependant, malgré de fortes recommandations d'amélioration de J. curcas pour une production intensive, peu de références existent sur les caractéristiques génétiques de la plante. Le peu de données qui existent sur cet aspect se rapportent aux travaux effectués en Inde (Sunil et al., 2008 ; Gohil et Pandya, 2008 ; Mishra, 2008 ; Basha et al., 2009). Au Sénégal, malgré la promotion de la culture du J. curcas, la seule étude de diversité connue se rapporte à une caractérisation moléculaire à l'aide de 5 amorces RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) et qui a porté sur 6 accessions (Ndoye et al., 2013). Au regard de la large distribution de l'espèce dans le pays, on peut s'interroger sur le niveau de sa diversité génétique. La variabilité phénotypique au sein de l'espèce a été rapportée dans plusieurs études. En effet, les travaux de Heller (1992) au Sénégal ont montré une forte variabilité de la croissance et des composants du rendement entre des accessions de différentes origines. Les études de Leye et al., (2009) montrèrent que des accessions locales répondaient différemment vis-à-vis du type de souche de champignon mycorhizien utilisé. Au regard de ces études, on peut donc s'interroger sur le niveau de variabilité de J. curcas au Sénégal. De telles informations sont utiles aux programmes d'amélioration de J. curcas. C'est pourquoi, dans le but de générer des informations sur le niveau de variabilité du matériel végétal local, nous nous proposons d'étudier la variabilité à différentes échelles ; germinatif, génétique ; éco-physiologique et agro-morphologique de J. curcas au jeune âge au Sénégal. De façon spécifique, il s'agit de :

- 1. caractériser la variabilité morpho-métrique des graines des accessions locales de J. curcas ;
- 2. examiner le comportement germinatif d'accessions locales de J. curcas;
- 3. analyser la diversité génétique locale de J. curcas à l'aide de marqueurs microsatellites ;
- 4. déterminer les constantes éco-physiologiques et de croissance de différentes accessions de *J. curcas* en relation avec la demande atmosphérique et le stress hydrique.

Le travail présenté dans ce manuscrit est articulé sous forme de chapitres. Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique présentant une description sommaire de la zone d'étude, des biocarburants, de *J. curcas* et des marqueurs moléculaires. Le deuxième et le troisième chapitre portent respectivement sur la variabilité morpho-métrique des graines de *J. curcas* et leur capacité germinative. Le quatrième chapitre aborde la question de la diversité génétique de *J. curcas* au Sénégal. Le chapitre cinq examine quelques caractéristiques physiologiques et de croissance de *J. curcas* au jeune âge. Enfin, le chapitre six expose les conclusions majeures auxquelles l'étude a abouti. Aussi, y-trouve-t-on des recommandations pour les recherches futures abordant des aspects similaires, lesquelles recommandations ont été formulées sur la base des principales contraintes et des limites notées dans notre étude.

Chapitre 1.

Synthèse bibliographique

1.1.1 Le climat et végétation

La république du Sénégal se situe en Afrique de l'Ouest et occupe l'extrémité la plus occidentale du continent africain avec une superficie de 196 722 Km². Comprise entre 12°8 et 16°41 de latitude nord et 11°21 et 17°32 de longitude Ouest, elle est bordée à l'Ouest par l'océan Atlantique (500 km de côte), au Nord par la Mauritanie, à l'Est par le Mali, au Sud par la Guinée et la Guinée Bissau. La Gambie, constituée d'une bande de terre longue de 350 km en bordure du fleuve Gambie, est enclavée dans le Sénégal. Le Sénégal est constitué d'une grande plaine de savane arborée dont l'altitude dépasse rarement 130 mètres. Son point culminant, le mont **Assirik (498 m)**, se situe dans le Fouta Djalon à son extrémité Sud-Est (www.gouv.sn, 28/10/2013; www.cooperationdecentralisee.sn, 28/10/2013).

Le climat au Sénégal est de **type tropical sec**. Il se caractérise par une sécheresse au nord et par des pluies abondantes dans le sud du pays, notamment en Casamance (100 mm au nord, 1200 mm au sud) et par l'alternance de deux saisons :

- une saison sèche de novembre à juin pendant laquelle soufflent les alizés maritimes qui apportent de la fraîcheur au niveau du littoral, et l'harmattan sec et chaud qui charge l'air de poussières et engendre le phénomène des brumes sèches ;
- une saison des pluies de juillet à octobre, improprement appelée "hivernage", provoquée par la mousson du sud-ouest. La saison des pluies est plus longue et plus intense en Casamance, au sud du pays.

La température est en permanence assez élevée. Son évolution et sa distribution résultent de la conjonction de facteurs météorologiques et géographiques. Les minima thermiques sont atteints pendant le mois de janvier et les maxima pendant le mois de juillet (saison des pluies). Sur le littoral nord, les températures moyennes journalières sont modérées à travers l'année (16-30°C). Pendant la saison sèche et chaude de l'année (mars à juin), les températures montent jusqu'à plus de 40°C dans la zone centre-est du Ferlo (Linguère, Matam) et s'approchent de 39°C à Tambacounda (Bourou *et al.*, 2012).

Quatre principales zones écologiques sont observables au Sénégal. Du nord au sud on a la zone sahélienne, la zone soudano-sahélienne, la zone soudanienne et la zone Guinéenne (Gueye et al., 1993; Sarr et al., 2005; Grouzis et Akpo, 2006).

• La zone sahélienne, rencontrée dans la partie nord du pays est comprise entre les isohyètes 150 mm et 500 mm. La couverture végétale est de type herbacé qui se développe dès le début de la saison pluvieuse (mois de Juillet) pour deux à trois mois. La couverture herbacée disparait pendant la saison sèche sous l'effet combinée du manque d'eau, du pâturage du bétail et des termites exposant ainsi des sols nus à l'érosion éolienne. Quelques espèces ligneuses sont dispersées dans de vastes étendues couvertes d'herbacés annuelles. Les associations espèces ligneuses et herbacées définissent les types de végétation prédominants dans la zone. On distingue couramment les savanes arbustives (caractérisées par la seule présence d'arbustes parmi le tapis herbacé) et les savanes arborées (présence d'arbres et arbustes disséminés sur le tapis herbacé avec une hauteur des arbres se situant entre 8 et 12 m pour une densité du couvert de 25 à 35 %) (Grouzis et Akpo, 2006). Le Sahel est le domaine des genres Balanites et Acacia, représentés par quelques 12 espèces (Diouf, 1996 ; Sarr et al., 2005).

- La zone soudano-sahélienne correspond à la bande centrale du territoire et recouvre la majeure partie de la grande région agricole du Bassin arachidier (figure 1.1.). Les types de végétation y sont les forêts arbustives (présence dominante d'arbustes) à forêts arborées (présence marquée d'arbres clairsemés). La zone est comprise entre les isohyètes 500 et 900 mm et est centrée autour de l'isohyète 700 mm (Grouzis et Akpo, 2006; Sarr et al., 2005). Les mois de juillet, août et septembre sont les plus pluvieux. Les travaux de Grouzis et Akpo (2006) ont révélé qu'environ 80 espèces d'arbres sont spécifiques à cette zone écologique. Située à l'interface de la zone sahélienne sèche et de la zone soudanienne plus humide, la zone soudano-sahélienne manifeste sous des formes variées certains traits du paysage des deux régions limitrophes. Les espèces sahéliennes rencontrées dans la zone disparaissent progressivement au fur et à mesure que l'on avance vers le sud de la zone soudano-sahélienne (Le Houerou, 1997). Les arbres typiques de la zone sont Cassia sieberiana, Daniellia oliveri, Khaya senegalensis, Sclerocarya birrea, Tamarindus indica, Diospyros mespiliformis, Adansonia digitata, Terminalia macroptera. La composition et la structure végétales originelle de la zone sont sujets à de profondes modifications dû à l'action anthropique en particulier dans le bassin arachidier (Grouzis et Akpo, 2006; Sarr et al., 2005).
- La zone soudanienne se rencontre dans le sud du pays et est caractérisée par des forêts denses semi-persistantes. La superficie de ces forêts a été réduite à quelques communautés vestiges par une déforestation généralisée au bénéfice des cultures de riz, maïs, arachide, manioc (Gueye et al., 1993). Les forêts denses semi-persistantes sont rencontrées dans les zones dont la pluviométrie annuelle moyenne dépasse 900 mm. La saison sèche dans cette zone a une durée variable de 6 à 7 mois (Bourou, 2012).
- La zone guinéenne, à l'extrême sud-est du pays, est représentée par le sud de la Basse Casamance. C'est la région la plus humide du Sénégal, avec un indice pluviométrique compris entre 1200 et 1850 mm (Gueye et al., 1993). Les maxima de température sont observés de mars à mai et les minima entre janvier et février. Les minima concernant l'humidité sont observés entre févriermars. La saison des pluies, de durée moyenne, s'étale habituellement de mai à octobre. Du fait de l'extension des terrains de culture de l'arachide ou du riz, la végétation primaire de type forêt dense semi-décidue de cette zone est progressivement remplacée par des savanes densément boisées ou des forêts sèches denses à Farinari excelsa (Sabine), Detarium senegalense (J.F. Gmel.), Khaya senegalensis (Desr.) A. JUS., Afzelia africana (Sm). et Erythrophlaeum guineense. Les palmiers à huile (Elaeis guineensis Jacq.) forment encore aujourd'hui des peuplements denses aussi bien dans les bas-fonds que dans les galeries traduisant ainsi la faible profondeur de la nappe phréatique (Gueye et al., 1993).

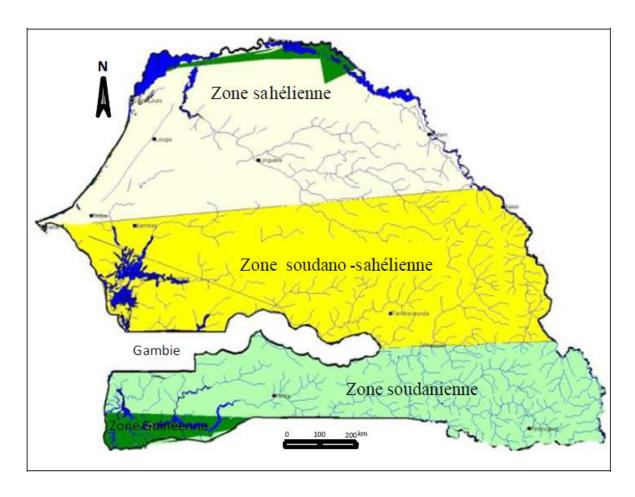


Figure 1.1. Carte des zones climatiques du Sénégal réalisée sur la base du bilan hydrique (Sarr *et al.*, 2005)

1.1.2 Politique énergétique du Sénégal

Les « lettres de politique de développement du secteur énergétique » (LPDSE) de 1997, 2003 et 2008, résument la politique énergétique sénégalaise des dernières années (Dia et al., 2009). La plus récente, élaborée en 2008 vise à :

- assurer l'approvisionnement du pays en énergie, en quantité suffisante, dans les meilleures conditions de qualité et de durabilité et à moindre coût ;
 - élargir l'accès des populations aux services modernes de l'énergie ;
- réduire la vulnérabilité du Sénégal aux aléas exogènes, notamment ceux du marché du pétrole.

La stratégie du gouvernement repose sur les principaux axes suivants :

- le développement et l'exploitation des potentialités énergétiques nationales notamment dans le domaine des biocarburants et des énergies renouvelables ;
- la diversification énergétique à travers la filière charbon minéral, le biocarburant, la biomasse, le solaire, l'éolienne, etc., pour la production d'électricité;
- le recours accru à l'hydroélectricité dans le cadre de la coopération régionale notamment au sein des organismes de bassins fluviaux et du WAPP (West african power pool);

- la sécurisation de l'approvisionnement en hydrocarbures du pays par le renforcement du raffinage local et la coopération avec des pays producteurs de pétrole;
- l'adaptation de l'infrastructure énergétique à la demande en s'appuyant sur le secteur public et sur le secteur privé ;
- l'accélération de l'accès à l'électricité, en particulier avec la promotion de l'électrification rurale et le développement des services énergétiques pour la satisfaction des activités productives sociales ;
 - la maitrise de la demande d'énergie et l'amélioration de l'efficacité énergétique ;
 - la consolidation de la gouvernance du secteur de l'énergie ;
- la restructuration du sous-secteur de l'électricité en vue d'une plus grande efficacité et d'une implication judicieuse du secteur privé ;
- la consolidation de la politique d'aménagement des ressources forestières en vue d'un approvisionnement durable des populations en combustibles domestiques.

La grande nouveauté dans cette dernière lettre est la place accordée aux énergies renouvelables et aux biocarburants. En effet, ces domaines étaient quasiment absents des politiques énergétiques de 1997 et 2003. Les quelques réalisations dans ces domaines étaient très limitées et la plupart des actions entreprises ont été estompées.

Les biocarburants constituent un élément nouveau dans la politique énergétique et agricole. En 2007, le gouvernement a lancé un **programme spécial biocarburant** avec pour but de réaliser l'autosuffisance énergétique nationale par la production de bioénergie de substitution en augmentant et en diversifiant significativement la production agricole. L'objectif du programme était de produire de 2007 à 2012, un milliard cent quatre vingt dix millions (1 190 000 000) de litres d'huile de *J. curcas* qui auraient permis d'obtenir 1 134 000 000 L d'huile raffinée de *J. curcas* utilisable comme biodiesel. Le coût global du programme s'élevait à 64 780 030 000 FCFA (129 560 060 dollars US). La production de 3 210 000 T de graines de *J. curcas* par an était prévue et une superficie de 321 000 ha à emblaver soit un rendement de 10 T à l'hectare (MDRA, 2007).

La volonté politique de l'état de développer cette source d'énergie s'est trouvée consolidée le 10 novembre 2006 à Dakar par la mise en place de l'Association des Pays Africains Non Producteurs de Pétrole (APANPP) sous l'initiative du Président du Sénégal, Maître Abdoulaye WADE. La stratégie de l'Etat repose sur la promotion de *J. curcas* pour la production d'huile. Par ailleurs, le gouvernement du Sénégal veut s'appuyer sur la coopération sud-sud pour soutenir le développement des biocarburants. Le Brésil, du fait de son expérience en matière de biocarburant, est ainsi un partenaire stratégique du Sénégal. Au niveau sous régional, l'UEMOA contribue au développement de la filière à travers le Programme Régional Biomasse Energie, en mettant à la disposition du gouvernement du Sénégal une enveloppe de 98 millions de FCFA pour la mise en œuvre d'une « unité expérimentale de production d'électricité à partir de la biomasse » (Dia et al., 2009).

1.2 Les biocarburants

Le terme biocarburant dérive du grec *bios* (vie, vivant) et du latin *carbo* (carbone, charbon). Il est utilisé au sens strict pour désigner les carburants liquides issus de plantes d'origine agricole ou forestière et de leurs dérivés (fumures animales). Au sens large, le biocarburant inclut les carburants gazeux obtenus à partir de la biomasse végétale ou animale (dihydrogène ou méthane) et les carburants solides comme le charbon de bois (www.techno-Science.net; 28/10/2013). On distingue deux grands types de biocarburant : le bioéthanol et le biodiesel. Le bioéthanol produit à partir de la fermentation du sucre provenant directement de plantes (canne à sucre ou la betterave sucrière), de l'hydrolyse de l'amidon des céréales (maïs, blé) ou de la cellulose et de la lignine des végétaux. Le biodiesel issu de la transestérification d'huiles végétales pures produites à partir de ressources renouvelables telles que les huiles de grains oléagineux, les graisses de cuisson recyclées et les déchets de graisses animales (Figure 1.2.). Selon Gui et *al.*, (2008), 84% de la production mondiale de biodiesel proviennent de l'huile de colza, 13% du tournesol, 1% de l'huile de palme et 2% d'huile de soja et autres.

Les biocarburants dits de première génération sont des biocarburants issus de plantes ou de dérivés de plantes qui entrent dans l'alimentation humaine et/ou animale. Ils concernent de nombreuses plantes oléagineuse et sucrière (la canne à sucre, la betterave sucrière, les céréales, le palmier à huile, l'arachide, etc.). On estime que plus de 95% du biodiesel est produit à partir d'huiles comestibles (Carel, 2010).

Ceci a pour conséquence de menacer la sécurité alimentaire si bien que les biocarburants de première génération sont fortement décriés (Dronne *et al.*, 2011). L'utilisation des céréales (maïs, blé, seigle) à des fins de biocarburant a entrainé une flambée des prix de ces productions et les quantités importantes d'engrais utilisées dans leur culture sont à l'origine de la pollution des sols (www.techno-Science.net; 28/10/2013). La forte demande de ces productions sur le marché, induite par la production des biocarburants, participe à la destruction des forêts tropicales par l'accroissement des superficies cultivées, avec des conséquences écologiques souvent irréversibles. La culture des plantes telles que le palmier à huile, la canne à sucre à grande échelle est à l'origine de la destruction des écosystèmes naturels. En cultivant les agro-carburants sur des terres agricoles ou sur des écosystèmes naturels (forêts tropicales, forêts sèches, etc.) on contribue à fragiliser les équilibres naturels et à détruire la biodiversité. Ceci a stimulé le développement d'autres types de biocarburants ne faisant pas concurrence aux cultures alimentaires et présentant un bilan environnemental nettement positif : les biocarburants de deuxième et troisième générations.

Les biocarburants de deuxième génération sont des biocarburants issus de matières premières qui ne font pas concurrence à l'alimentation humaine et animale. La biomasse végétale (bois, paille), les huiles végétales non comestibles (huile de *J. curcas*, de *Pongamia pinnata*, de *Ricinus communis*) sont entre autres les matières premières utilisées.

Une nouvelle génération de biocarburant appelée biocarburant de troisième génération suscite un grand intérêt. Il s'agit de produire du biocarburant à partir d'huile produite par des micro-algues. Les micro-algues présentent l'avantage d'avoir un rendement de 30 à 100 fois supérieur à celui des oléagineux terrestres et leur production en masse est possible sans une déforestation massive ni concurrence avec les cultures alimentaires. Elles peuvent être produites sur mer ou sur des eaux sales, sont biodégradables et ne présentent pas une menace pour l'environnement. La culture des micro-algues est optimale sous une concentration moyenne de 13% de CO₂ et peut ainsi aider à réduire le dioxyde de carbone dans l'atmosphère. Le couplage de la production des micro-algues à

d'autres procédés de production de biocarburant émettrices de CO₂ pourrait être une voie d'avenir dans la perspective d'un développement durable (<u>www.techno-Science.net</u>, 2/10/2013 ; An *et al.*, 2011).

Les biocarburants polluent moins l'environnement car ils émettent moins de gaz à effet de serre comparés aux énergies fossiles telles que le pétrole ou le charbon (Janulis, 2004). La combustion du biodiesel libère dans l'atmosphère moins d'hydrocarbures, de monoxyde de carbone et de particules mais émet plus d'oxyde d'azote (Cheng et al., 2008; Lin et al., 2006). L'agence américaine de protection de l'environnement a rapporté que le mélange du diesel fossile avec 20% de biodiesel diminue l'émission de particules de 10,1%, d'hydrocarbure de 21%, de Monoxyde de carbone de 11% et de 2% d'oxyde d'azote comparé au diesel pur (USEPA 2002). La nature et la quantité des composés émis dépendent du type de machine et du type de biodiesel. Cependant, leur viabilité économique reste encore critique pour une commercialisation à large échelle. Des efforts sont fournis pour accroitre la productivité des plantes utilisées et améliorer l'efficience des procédés de transformation de la matière première en biocarburant. L'utilisation de plantes à usage multiples et moins exigeantes telles que J. curcas suscite un intérêt particulier dans les pays en voie de développement. En Afrique de l'ouest, la culture de J. curcas est promue pour assurer la sécurité énergétique et soutenir l'économie rurale par la diversification des sources de revenus et la création d'emplois liés à la filière biocarburant.

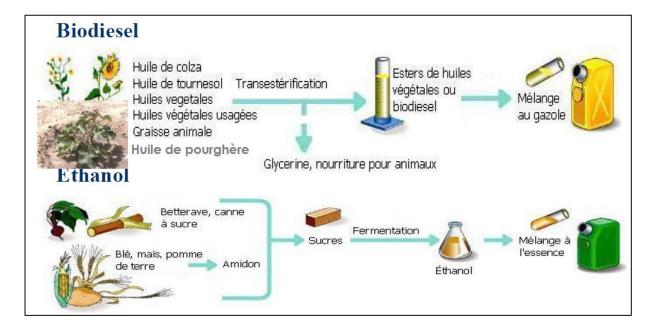


Figure 1.2. Schéma de fabrication du biodiesel et de l'éthanol (MDRA, 2007)

1.3 Présentation de Jatropha curcas L.

J. curcas dérive du grec jatros qui signifie docteur et de trophe qui signifie aliment (Divakara et al., 2009). Appelée pourghère en français, J. curcas est un arbuste pouvant atteindre 8 à 10 mètres de hauteur dans certaines conditions climatiques et une longévité de plus de 50 ans (Achten et al., 2008). J. curcas possède des vertus médicinales et a été jadis utilisée dans de nombreuses sociétés, comme en témoigne ses multiples dénominations (Tableau 1.1.).

Tableau 1.1. Noms vernaculaires de *J. curcas* dans différents pays (Source Divakara et al., 2009)

Langue/pays	Nom	
Anglais		
S	purging nut	
Français	pourghère, pignon d'Inde	
Hollandais	purgeernoot	
Allemand	Purgiernuß, Brechnuß	
Portugais	purgueira	
Italien	fagiola d'India	
Arabe	dand barri, habel meluk	
Sanscrit	kanananaeranda, parvataranda	
Hindi	ratanjyot, bagbherenda, jangli arandi	
Nepal	kadam	
Chinois	yu-lu-tzu	
Tailand	sabudam	
Philippines	tubing-bakod, tuba-tuba	
Indonesie	jarak budeg	
Côte d'Ivoire	bagani	
Togo	kpoti	
Sénégal	tabanani, lite-rogue, kidi etc.	
Angola	mupuluka	
Nigéria	butuje	
Tanzanie	makaen	
Mexico	piἡoncillo	
Costa Rica	coquille, template	
Puerto Rico	tartago	
Brésil	mundubi-assu	
Perou	piἡol	
Guatemala	pinon	

1.3.1 Taxonomie du J. curcas

Le genre *Jatropha* appartient à la tribu Jatropheae des Crotonoideae de la famille des Euphobiaceae. Il compte approximativement 175 espèces regroupant des plantes succulentes, des arbustes et des arbres. Dehgan et Webster (1979) distinguent deux sous-genres : *Jatropha* et *Curcas*. *J. curcas* est certainement la forme primitive du genre *Jatropha* du fait qu'il a des caractères morphologiques communs aux sous-genres *Curcas* et *Jatropha* (Dehgan et Webster, 1979). Les autres

espèces dériveraient soit de *J. curcas* soit d'une autre forme ancestrale suite à la modification des structures florales et de l'habitat (Heller, 1996).

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Malpighiales

Famille: Euphorbiaceae

Sous famille: Crotonoideae

Tribu: Jatropheae

Genre: Jatropha

Espèce: Jatropha curcas L.

(Wurdack et al., 2008; Divakara et al., 2009)

1.3.2 Description botanique de J. curcas

La croissance de *J. curcas* est articulée avec un tronc rectiligne et des branches assez larges. Les branches contiennent du latex. Elles sont souples à l'état jeune et deviennent cassantes avec l'âge, ce qui peut gêner les opérations de récolte. L'écorce est grise ou roussâtre et marquée de taches blanches. La feuille, en forme de cœur, est plus ou moins découpée en 3 à 5 lobes. La plante perd ses feuilles en milieu de saison sèche en zone semi-aride. Par contre, elle les garde durant toute l'année en zones humides. Lorsque la plante perd ses feuilles, la repousse se fait un peu avant les premières pluies au moment où l'humidité de l'air augmente. Les premières jeunes feuilles sont souvent rougeâtres. La toxicité des parties aériennes et l'odeur repoussante qu'elles dégagent font que la plante n'est pas broutée par les animaux. A cause de sa toxicité, *J. curcas* est couramment utilisée comme haie vive de clôtures autour des jardins pour protéger les cultures.

J. curcas peut vivre plus de 50 ans et fleurir plusieurs fois dans l'année lorsque l'eau est constamment disponible (Achten et al., 2008; Heller, 1996). Ainsi, on peut rencontrer à la fois des fruits mûrs, verts et des fleurs sur la même branche ce qui peut rendre la mécanisation de la récolte problématique. En zone sahélienne, la floraison a lieu en fin de saison des pluies (Dhillon et al., 2006) et parfois durant le printemps (Mars-avril).



Photo 1.1. Arbuste de J. curcas

La plante est monoïque et l'inflorescence est une panicule au sommet du tronc ou de la branche portant à la fois des fleurs mâles (80-90%) et femelles (10-20%). Le ratio fleurs femelles sur fleurs mâles par inflorescence est faible à la première année de plantation et augmente progressivement durant les 5 années suivantes (Bhattacharya et al., 2005). Ce ratio diminue avec la baisse de température (Divakara et al., 2009). Les fleurs mâles qui comportent 10 étamines s'ouvrent pour une durée de 8 à 10 jours contre 2 à 4 jours pour les fleurs femelles (Jongschaap et al., 2007; Raju et al., 2002). Les fleurs femelles s'ouvrent avant les fleurs mâles ce qui a tendance à favoriser une pollinisation croisée plutôt qu'une autofécondation. Le nectar est produit en quantité plus importante chez les fleurs femelles. Qing et al., (2007) ont identifié en Chine 11 agents pollinisateurs de J. curcas dont Apis dorsata, Apis florea, Apis mellifera, Eumenes conica, avec une présence abondante entre 10-12 h et entre 16-17 h. Après pollinisation, l'inflorescence forme une grappe de 10 fruits en moyenne de forme ovale et longue de 2 à 3 cm. Chaque fruit a trois carpelles avec un potentiel de 2 fruits par carpelle (Kochhar et al., 2008). Cependant, 2,5 graines sont formées en moyenne par fruit (communication personnelle de Nagashi Tominaga, Biojan-MG Agro Industrial Itda, Janau'ba, MG, Brazil). La durée fructification-maturité est de 55 à 61 jours à partir de la date de formation du premier fruit (Dhillon et al., 2006).

1.3.3 Origine

L'origine de *J. curcas* est pour le moins controversée. Selon Carels (2010), *J. curcas* serait originaire de l'Amérique du sud. Il a fondé sa thèse sur les formes fossiles datant de l'aire tertiaire, retrouvées par Berry (1929) dans les formations géographiques du Pérou en Amérique du sud. Selon le même auteur, l'Afrique se serait séparée de l'Amérique du sud il y a environ 65 millions d'années. L'absence de *J. curcas* sur le continent africain avant son introduction au 19^{ème} siècle

montre que sa diffusion en Amérique Centrale se serait faite il ya moins de 65 millions d'années. Ce point de vue n'est pas partagé par Ovando-Medina et al., (2011). Ces derniers auteurs pensent que J. curcas serait originaire de l'Amérique Centrale et du Mexique. Leur théorie est basée sur la forte diversité spécifique du genre Jatropha rencontrée au Mexique et en Amérique Centrale. Plus de 100 à 175 espèces de J. curcas sont originaires de cette région dont 31 sont endémiques au Mexique (Jiménez and Martinez, 1994; Dehgan and Webster, 1979). Le débat sur le centre d'origine de J. curcas est loin d'être clos. L'Amérique tropicale est souvent citée comme centre d'origine pour éviter toute polémique (Ambrosi et al. 2010; Divakara et al., 2009; Ganesh-Ram et al., 2008; Ranade et al., 2008). Dans le reste du document, nous conserverons donc cette dernière origine, c'est-à-dire l'Amérique tropicale.

1.3.4 Historique de diffusion

Jatropha serait introduite du continent Américain tout comme il a été rapporté pour la pomme de terre, l'arachide, le haricot (Mark *et al.*, 2001 ; Olcook.com/histoire-produits_amerique, 04/12/2013). Selon Heller (1996), *J. curcas* aurait été transportée au cours du 19ème siècle de l'Amérique tropicale par des marins portugais au Cap Vert où elle a été abondamment plantée pour produire du savon exporté alors en Europe. Plusieurs décrets datant de 1843 incitaient à la culture de *J. curcas* au Cap Vert (Freitas, 1906 ; Serra, 1950). Par la suite, elle aurait atteint la Guinée Bissau et plusieurs autres pays africains (Figure 1.3). Selon Burkill (1966), son introduction en Asie se serait faite aussi par des marins portugais à la même période. Les appellations « castor oil plant » ou « hedge castor oil plant » illustrant le fait que la plante était convoitée pour son huile ou son utilisation pour construire des haies vives. Plusieurs autres appellations sont rapportées (Tableau 1.1.) attestant ainsi sa large diffusion et son utilisation par les populations.

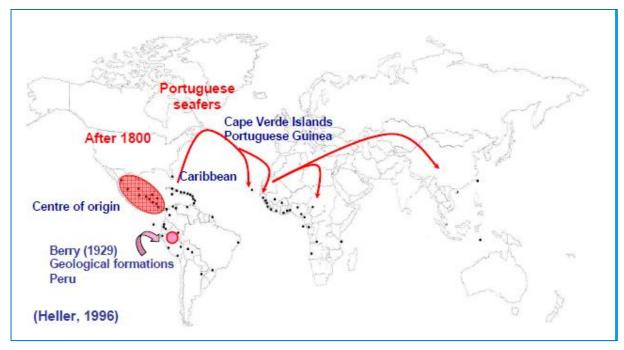


Figure 1.3. Origine et zones de diffusion de J. curcas à travers le monde (Heller 1996)

Au Sénégal, aucune donnée n'existe sur la date d'introduction de *J. curcas* dans le pays. Cependant, tout porte à croire qu'elle serait introduite à partir de la Guinée Bissau, un pays frontalier, au sud ou du Cap Vert, archipel au large des côtes du Sénégal. Elle serait diffusée à travers le pays à la fois par la reproduction sexuée et par la multiplication végétative (les paysans faisant des boutures).

1.3.5 Ecologie

I. curcas est largement repartie dans les régions tropicales et intertropicales ainsi que sur les îles tropicales (Domergue et Pirot, 2008). Elle est apte à se développer sous une large gamme de températures (15-40°C) et de pluviométrie (250-3000 mm). Son aire de distribution naturelle se situe principalement dans les zones arides et semi-arides (Jones et Miller, 1992; Makkar et al., 1997). On la rencontre en Amérique Centrale et du Sud, en Afrique, en Inde, en Asie du sud et en Australie (Carels, 2010). Elle a une forte aptitude à résister au stress hydrique (Zhang et al., 2008). Cependant, on la rencontre également dans les régions tropicales humides comme le Guatemala (pluviométrie > 4000 mm/an), ou le Nord du Vietnam et en Thailande. L'aire de culture serait entre la latitude 30°N et 35°S (Rijssenbeek et al., 2007). Elle est plus sensible aux basses températures qu'aux hautes altitudes et aux jours longs (Foidl et al., 1996). La plante nécessite un éclairage suffisant et ne peut pas se développer sous la canopée des forêts. Elle se développe sur une large gamme de sols pourvu qu'ils soient aérés et bien drainés (Kumar and Sharma, 2008). Rao et al. (2012) ont rapporté un besoin mensuel en eau de J. curcas de 10 mm à 140 mm selon les conditions atmosphériques avec une capacité d'extraction de l'eau au delà de 150 cm dans le sol. Bien que J. curcas puisse survivre dans des conditions environnementales difficiles, sa croissance et sa productivité sont meilleures sur un sol profond (au moins 45 cm) non déficient en nitrate, en phosphore et en potassium. L'inoculation mycorhizienne peut aussi contribuer à améliorer sa croissance et sa productivité (Achten et al., 2008; Leye et al., 2009).

1.3.6 Mode de multiplication

J. curcas est multipliée par bouture et par graine. Des boutures de 25 à 30 cm de long, issues de branches âgées d'un an sont les mieux indiquées (Domergue et Pirot, 2008). Samba et al. (2007) ont rapporté un faible taux de survie pour les boutures de moins de 10 cm. Un prétraitement des boutures avec des champignons mycorhiziens ou de l'acide indole-3-butyric (AIB) favorise leur survie et permet une croissance et une fructification rapides (Carvalho et al., 2007; Kochhar et al., 2008). La plantation par bouture présente l'avantage de donner des plants génétiquement uniformes et une production plus rapide (dès la première année). Quant à la plantation par graines, elle donnerait des plantes plus saines avec un système racinaire plus profond et pouvant vivre plus longtemps (jusqu'à 50 ans). Il est recommandé d'immerger les graines durant 24 h dans l'eau avant semis et la germination a lieu 5 à 10 jours après semis à 27-30°C (Carel et al., 2010). La plantation au champ se fait le plus souvent à partir des boutures et des jeunes plants issus de semis élevés en pépinière, âgés de 2 à 3 mois. La plantation au champ se fait en début de saison des pluies avec une densité de semis assez variable ; 2 x 2 m en Inde à 7 x 4 m à Cuba. Une forte densité rend difficile toute mécanisation de la récolte et des traitements phytosanitaires. Une densité de 5 x 2m serait un

bon compromis entre la production et la mécanisation (N. Tominaga, communication personnelle). Plusieurs types de parasites dont les termites, les thrips, les champignons sont signalés sur *J. curcas* (Saturnino *et al.*, 2005 ; Freire and Parente, 2006) et leur impact en monoculture à grande échelle de *J. curcas* est à craindre. Les rendements en graines sont très variables allant de 0,4 à 12 T à l'hectare par an (Openshaw, 2000). Les graines produites sont relativement riches en huile convertible en biodiesel.

1.3.7 Huile de J. curcas

La graine de *J. curcas* renferme de l'huile à haute valeur énergétique (37,83 MJ/Kg) pouvant être convertie en biodiesel par trans-estérification (Augustus *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2008). La teneur en huile des graines est très variable selon les auteurs. Elle est probablement fonction de la technique d'extraction de l'huile, de l'origine des graines et de leur taux d'humidité. Les rendements de l'extraction mécanique seraient de 40 à 55% du poids des graines et de 70 à 75% du poids de l'amande (Willems *et al.*, 2008). L'extraction au solvant (n-hexane) donnerait des rendements en huile de 60% du poids de l'amande (Veronique *et al.*, 2002). Une extraction par voie enzymatique a aussi été rapportée (Shah *et al.*, 2004). Cette dernière technique donnerait le même rendement en huile que l'extraction au solvant mais serait 12 fois plus longue. Kaushik *et al.*, (2007) ont rapporté des teneurs en huile variant de 28 à 38,8% avec l'extraction au soxhlet. Cependant, ces auteurs n'ont pas précisé le type de solvant utilisé ni indiqué si la teneur en huile était fonction du poids de l'amande ou de la graine entière.

Tableau 1.2. Comparaison des propriétés de l'huile de *J. curcas* à celles d'autres carburants (MDRA, 2007)

	Densité à 20 °C (g/cm3)	Viscosité à 20 °C (cSt)	Point de combustion (°C)
Gazoil	0.830	6	70
Huile brute de J. curcas	0.920	77	236
Huile raffinée de J.curcas	0.907	Faible viscosité	205
Biodiesel à partir du soja	0.920	61	330
Biodiesel à partir du tournesol	0.925	58	316
Biodiesel à partir d'huile de palme	0.915	60	230
Biodiesel à partir du coton	0.921	73	243
Biodiesel à partir de l'arachide	0.914	85	258

La composition de l'huile de *J. curcas* en acide gras est C14:0 (1,4%), C16:0 (15,6%), C18:0 (9,7%), C18:1 (40,8%), C18:2 (32,1%), et C20:0 (0,4%) (Foidl *et al.*, 1996; Kumar and Sharma, 2008; Nahar *et al.*, 2005). Elle a une bonne stabilité à l'oxydation comparée à l'huile de soja, une faible viscosité comparée à celle du ricin et une température de solidification plus basse comparée à l'huile de palme (Tableau 1.2.). Par ailleurs, le biodiesel produit est plus stable et ses propriétés sont proches de celles du diesel fossile et est conforme aux standards Américain et Européen (Augustus et *al.*, 2002; Tiwari et *al.*, 2007). Les tourteaux issus de l'extraction de l'huile sont utilisés au champ comme fertilisant et pourraient servir à la fabrication du biogaz ou de briquets combustibles du fait de son fort pouvoir calorifique (Singh *et al.*, 2008; Sharma and Singh *al.*, 2008). Les meilleurs génotypes à forte teneur en huile et de bonne qualité sont convoités et nécessitent des programmes d'amélioration.

1.3.8 Amélioration variétale de *J. curcas*

J. curcas est une plante peu connue et les programmes de sélection sont à leur début. Les quelques programmes rencontrés sont entamés en Inde, Chine, Thailand, Philippines, Mexico, Guatemala, Brésil (Carel, 2010). Améliorer la morphologie des graines, le rendement en graines, la teneur en huile, la synchronisation de la maturation des fruits, la résistance aux maladies sont entre autres des pistes de sélection. A nos jours, peu de variétés de J. curcas sont connues et leur différentiation est basée sur des caractères morphologiques et biochimiques. Trois variétés sont le plus souvent citées en exemple: la variété du Cap Vert largement cultivée dans le monde, la variété du Nicaragua qui a des fruits relativement plus gros et la variété mexicaine qui est non-toxique (Heller, 1996; Henning, 1997; Sujatha et al., 2005). Récemment, des variétés commerciales sont apparues. Il s'agit de la SDAUJ1 de l'Inde, de la variété JMAX du Guatemala (Ovando-Medina et al., 2011). Aucune étude comparative entre ces variétés n'est disponible. Le succès des futurs programmes de sélection est étroitement lié au degré de variabilité génétique dans les populations de J. curcas si bien que de nombreux instituts ont entrepris des travaux de caractérisation de l'espèce et plusieurs techniques de biologie moléculaire sont utilisées à cet effet.

1.4 Marqueurs moléculaires

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe. Il correspond donc au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN. Les marqueurs moléculaires révèlent directement les variations dans les séquences nucléotidiques de l'ADN qu'elles soient traduites ou non par une modification phénotypique. Cette variabilité est utilisée pour définir des marqueurs permettant soit de caractériser des individus, c'est l'empreinte génétique ou *fingerprint*, soit de caractériser des populations, soit de cartographier des gènes. De plus en plus, les chercheurs ont recours à ces marqueurs pour caractériser la variabilité génétique au sein de leurs échantillons. Ce choix se justifie par le fait qu'ils ne sont pas influencés par les fluctuations de l'environnement, sont indépendants de l'organe analysé, du stade de développement de la plante et sont en nombre illimité contrairement aux marqueurs morphologiques. Ces caractéristiques font de ces marqueurs des outils de choix et ouvrent de nouvelles perspectives aux chercheurs.

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, et de nouvelles sont régulièrement publiées (Gupta et al., 2001; Langridge et al., 2001; Rafalski, 2002). Chacun de ces marqueurs a sa propre spécificité, ses domaines d'application et son coût (Gupta et al., 1999; Santoni et al., 2000; Langridge et al., 2001). Ces marqueurs peuvent être regroupés en deux grands groupes. Les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et les marqueurs basés sur la méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction) ou réaction de polymérisation en chaîne (Figure 1.4).

Les marqueurs de type RFLP

Les marqueurs de type RFLP développés par Botstein et al., (1980) reposent sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction (Figure 1.4.). Après digestion, les fragments d'ADN sont séparés par migration sur gel d'agarose et transférés sur une membrane de nylon. La membrane de nylon est mise en contact avec une solution de fragments d'ADN marqués à la radioactivité ou associé à un conjugué enzymatique. Ces fragments s'hybrident sur des fragments homologues et la révélation se fait par radiographie ou par réaction colorée. Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde (Najimi et al., 2003). Les RFLP sont co-dominants, ils permettent de révéler des hétérozygotes mais la technique est lente, laborieuse et nécessite une bonne qualité et une grande quantité de l'ADN initial.

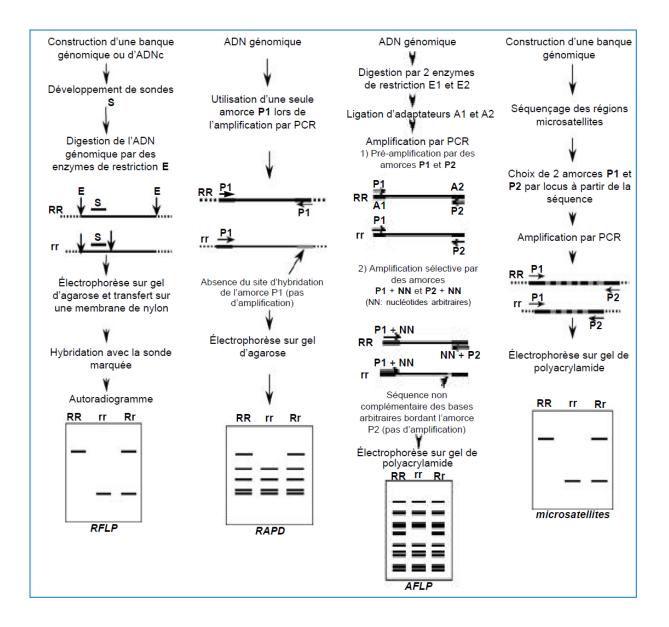


Figure 1.4. Schéma de différentes techniques de marquage moléculaire (Najimi et al., 2003)

Les marqueurs basés sur la technique PCR

Les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat)

Ce sont des séquences d'ADN constituées de motifs di, tri ou tétra-nucléotidiques répétés en tandem (Morgante et Olivieri, 1993). Leur polymorphisme est basé sur le nombre de répétition d'unité (s) les constituant. Les séquences complémentaires des séquences flanquant ces éléments répétés permettent de définir des amorces utilisées pour l'amplification PCR. Les produits de PCR sont séparés par migration sur un substrat résolutif, c'est à dire capable de détecter des différences d'une paire de bases. Dans le cas, d'un gel, on utilise de l'acrylamide. La révélation se fait par coloration au BET (bromure d'éthydium), au nitrate d'argent ou par détection de la flourescence couplée aux produits de PCR. C'est le cas, des séquenceurs automatiques, et notamment du

sequenceur Licor, pour lequel la détection se fait en infrarouge. Avec les SSR, le polymorphisme est un polymorphisme de taille des fragments.

Les SSR sont de bons marqueurs moléculaires car ils sont reproductibles, co-dominants et la technique est relativement facile. Leur inconvénient réside dans le fait qu'il faut avoir des informations sur le génome afin de pouvoir développer les amorces.

Les marqueurs AFLP

Le principe des AFLP est fondé sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires (Vos et al., 1995). Dans un premier temps, l'ADN est digéré par deux enzymes de restriction. Ensuite, des adaptateurs spécifiques aux enzymes de restriction sont fixés à l'extrémité des fragments générés par la digestion enzymatique. Une pré-amplification est réalisée à l'aide d'amorces complémentaires des séquences des adaptateurs et des sites de restriction. Ceci génère de nombreux fragments amplifiés. Pour réduire le nombre d'amplification, une deuxième amplification dite sélective est réalisée. Elle utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides). Ainsi seuls les fragments possédant les bases complémentaires des nouvelles amorces sont amplifiés. Ces fragments sont séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide dénaturant puis visualisés par coloration au nitrate d'argent ou révélés grâce à un marquage radioactif ou fluorescent réalisé lors de l'amplification sélective. Le polymorphisme est de type présence/absence. Elle présente l'avantage d'être puissante, stable et rapide. En outre, l'AFLP ne nécessite aucune connaissance préalable de la séquence du génome de la plante étudiée. Elle est utilisée dans les domaines de la diversité génétique, la détermination des relations phylogénétiques, la cartographie des génomes et le clonage. Son utilisation à grande échelle est limitée par sa dominance et son coût élevé.

Les marqueurs RAPD, Ramdom amplified polymorphic DNA,

La technique RAPD consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte d'environ 10 pb (Williams et al., 1990). Si deux sites d'hybridation en sens inverse sont suffisamment proches, l'amplification PCR est possible. Une variabilité dans la séquence des sites entre individus sera détectée par un polymorphisme du nombre et de la longueur des fragments d'ADN amplifiés. Le nombre de fragments amplifiés par amorce RAPD est variable. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le polymorphisme est de type présence/absence de bande et est dû à des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces. Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Néanmoins, la RAPD manque de reproductibilité puisqu'elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification (Najimi et al., 2003). Une variante de la technique RAPD est la ISSR (Internal simple sequence repeat). Elle consiste à utiliser des microsatellites comme amorces ce qui permet d'amplifier des régions comprises entre deux microsatellites.

Ces différents marqueurs permettent d'étudier le polymorphisme dans les populations d'étude. A partir des données obtenues, différents paramètres génétiques sont calculés afin d'apprécier la variabilité observée.

1.5 Mesure de la diversité génétique

Le polymorphisme

Selon la définition de Ford (1940), il y a polymorphisme si dans une même population coexistent pour un caractère donné plusieurs formes phénotypiques discontinues, déterminées génétiquement, et dont la plus fréquente ne représente pas plus d'une certaine fraction de la population totale, fixée à 95 ou 99%. Les techniques de biologie moléculaire permettant d'étudier la variabilité des séquences nucléotidiques de l'ADN ont nécessité une définition plus large du polymorphisme. Cette nouvelle définition se résume comme suit : il y a polymorphisme si dans une même population une portion codante ou non codante d'ADN présente une variation de séquence correspondant à plusieurs formes alléliques dont la plus fréquente ne représente pas plus d'une certaine fraction de la population totale, fixée à 95 ou 99%. Dans ce cas, la population est qualifiée de polymorphe. Par opposition, on appelle monomorphes les populations qui ne présentent pas de variabilité (un seul allèle présent dans la population).

La fréquence allélique : c'est la fréquence des différents états alléliques d'un locus c'est à dire des différentes formes alternatives d'un même locus. Dans le cas d'un gène autosomal à deux allèles A et a, la fréquence de l'allèle A est le rapport du nombre d'allèles A au nombre total d'allèles à ce locus, soit 2N pour une population de N individus diploïdes. Le nombre d'allèles A dans la population est donc 2NAA + NAa. Les fréquences p et q des allèles A et a sont alors les suivantes:

$$f(A) = p = \frac{(2NAA + NAa)}{2N}$$
$$f(a) = q = \frac{(2Naa + NAa)}{2N}$$
$$p + q = 1$$

Le nombre moyen d'allèles par locus (A) : c'est la moyenne du nombre d'allèles par locus (Sembène, 2000).

A= nombre total d'allèles / nombre de loci

La diversité allélique ne rend pas compte de la fréquence des allèles. De ce fait, on calcule le nombre **d'allèles efficaces** (Ae) qui prend en compte la fréquence des allèles rencontrés dans la population. Par exemple, pour un locus A à k allèles A_1 , A_2 , ... A_k de fréquences f_1 , f_2 ,... f_k , le nombre d'allèles efficaces est :

$$Ae = 1/(f_1^2 + f_2^2 + ... + f_k^2) = 1/\Sigma f^2$$

On peut ainsi calculer la moyenne du nombre d'allèles efficaces par locus.

La fréquence phénotypique: pour un caractère de la population, c'est la portion d'individus de la population qui présente ce caractère (ce phénotype). Par exemple, la fréquence du phénotype

noir d'une population est F[n]= Nn/N. Nn étant le nombre d'individus ayant la couleur noir et N le nombre total des individus de la population étudiée.

La fréquence génotypique : Pour un locus donné, c'est la proportion d'individus de la population qui présente ce génotype.

Taux de polymorphisme : c'est la proportion des loci polymorphes parmi l'ensemble des loci étudiés. Il est calculé en faisant le rapport de loci polymorphes au nombre total de loci (polymorphes et monomorphes) révélés (Sembène, 2000)

P = Nbre de loci polymorphes/Nbre total de loci étudiés

Le taux d'hétérozygotie : c'est la moyenne des fréquences des hétérozygotes observées à chacun des locus étudiés.

$$H_0 = 1/N \Sigma H_i$$

N étant le nombre total de loci étudiés qu'ils soient monomorphes ou polymorphes. Hi le nombre d'individus hétérozygote au locus i sur le nombre total d'individus étudiés.

Le taux d'hétérozygotie fournit une bonne estimation de la variabilité génétique de la population, à condition toutefois que les individus de cette population se reproduisent au hasard.

L'hétérozygotie théorique attendue (H_t): C'est une estimation de la fréquence des hétérozygotes si les allèles sont associés au hasard pour former les génotypes. Pour un locus A à k allèles $A_1, A_2, ...A_k$ de fréquences $f_1, f_2, ..., fk$, l'hétérozygotie attendue (H_tA) est la suivante :

$$HtA = 1 - (f1^2 + f2^2 + ... + fk^2) = 1 - \Sigma f$$

L'hétérozygotie théorique globale (Ht) est la moyenne des hétérozygoties attendues à chacun des loci étudiés:

$$Ht = 1/N \Sigma Hti$$

1.6 Marqueurs génétiques et diversité génétique de J. curcas

De nombreux marqueurs génétiques ont été utilisés pour étudier le polymorphisme intra et inter accessions de *J. curcas*. Les marqueurs RAPD sont de loin les plus utilisés (Ovando-medina et al., 2011) car ne nécessitent pas une connaissance du génome et la technique est relativement facile, bien que leur robustesse puisse être critiquée. Ces marqueurs ont été utilisés soit pour étudier la phylogénie au sein du genre *Jatropha* ou la diversité génétique de l'espèce *J. curcas*. Sujatha and Prabakaran (2003) ont utilisé des RAPD sur une population issue de croisement de *J. curcas* et *J. integerrima* et ont conclu que l'hybridation entre les deux espèces est possible. Des résultats similaires ont été rapportés par Sudheer-Pamidiamarri et al. (2009) et Ganesh-Ram et al. (2008). Une grande variabilité génétique dans les accessions d'Inde avec une similarité variant de 0,04 à 0,96 avec des RAPD et de 0,14 à 1 avec des minisatellites a été rapportée (Ranade et al., 2008). Tatikonda et al.

(2009) utilisant des AFLP sur des accessions indiennes ont observé que 680 sur 770 fragments étaient polymorphes. Cependant, une variabilité génétique relativement faible a été observée en comparant des accessions indiennes et des accessions non toxiques du Mexique (Sujatha et al., 2005). Ces auteurs ont rapporté un polymorphisme de 42,0 et 33,5% révélé avec 400 marqueurs RAPD et 100 marqueurs ISSR respectivement. Sur 12 marqueurs SSRs utilisés dans une étude de polymorphisme de génotypes mexicains et indiens, 7 ont été polymorphes (Sudheer-Pamidimarri et al. (2009). Oliveira et al. (2006) ont étudié la variabilité génétique de 24 accessions brésiliennes et ont observé une similarité maximale de 83% et une dissimilarité forte de 90% témoignant ainsi d'une forte variabilité génétique au Brésil. Cependant d'autres travaux ont montré une faible variabilité dans les accessions du Brésil (Bomfim-Gois et al., 2006). En Chine, 58 accessions de J. curcas ont montré 14% de polymorphisme sur la base de 70 fragments AFLP. Dans cette même étude, seul 1 marqueur SSR sur 17 SSR utilisés était polymorphe. Une autre étude portant sur des accessions de Chine a montré 27% de polymorphisme avec des marqueurs AFLP (Shen et al., 2010). Ainsi, il apparait clairement que les résultats sur la variabilité génétique des accessions d'une même région sont souvent différents et même contradictoires certainement liés à la fois au type de marqueur utilisé et à l'échantillonnage.

Des donnés de génétique de populations de *J. curcas* en Indonésie, en Chine et en Amérique du sud ont été rapportées par When *et al.* (2010). Ces auteurs ont rapporté un index de diversité génétique de 0,557. La valeur de Gst était de 0,186 montrant une différentiation génétique entre les populations étudiées. Des résultats similaires ont été rapportés par Ambrosi *et al.* (2010). L'index du flux de gènes observé était de 2,18 ce qui signifie un flux de gène élevé dans le passé. Une différentiation génétique modérée (Fst = 0,127) entre population de *J. curcas* en Chine a été révélée (Cai *et al.*, 2010).

Un groupe de Recherche International à l'université de Wageningen a entrepris une évaluation globale de la variabilité génétique de *J. curcas* (Ovando-Medina, 2011). Les résultats préliminaires ont montré qu'il y a une faible diversité génétique de *J. curcas* en Afrique et en Asie.

Ainsi, à l'exception de quelques travaux, la plupart des études moléculaires rapportées ont montré une faible variabilité génétique ce qui est surprenant chez une espèce allogame mais peut s'expliquer par le statut de plante introduite de *J. curcas* et dont la culture se faisait essentiellement par bouture.

Chapitre 2.

Zones de diffusion et variabilité morphométrique des graines de *Jatropha curcas* L. au Sénégal

Une partie de ce chapitre a fait l'objet d'une publication

Article de revue (annexe 2)

Ouattara B., Diédhiou I., Ndir K. N., Agbangba E. C., Cisse N., Diouf D., Akpo E. L. and Zongo J. D.; 2013. Variation in seed traits and distribution of *Jatropha curcas* L. in Senegal. *International Journal of Current Research*, Vol. 5(1)

Résumé

Dix-neuf accessions de *Jatropha curcas* L. de différentes zones agro-écologiques du Sénégal ont été collectées afin d'évaluer la variabilité locale des traits des graines. Seuls les arbres âgés d'au moins 5 ans ont été considérés dans l'étude afin d'éviter les récentes introductions. Les accessions étaient distantes d'au moins 20 Km. Les fruits collectés ont été bien étiquetés pour conserver l'identité de chaque accession. Les coordonnées géographiques des sites de collecte ont été enregistrées à l'aide d'un GPS (Global Positionning System). Les fruits ont été séchés en serre jusqu'à poids constant dans les mêmes conditions de température (25-30°C) et d'humidité (60%). Le ratio poids graine sur poids fruit (graine/fruit) a été déterminé sur 3 lots de 20 fruits chacun. Trois lots de 100 graines saines de chacune des accessions ont été pris au hasard et les traits des graines (longueur, largeur, épaisseur) ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse électronique. Cinq lots de 100 graines par accession ont été pris au hasard pour déterminer le poids 100 graines à l'aide d'une balance électronique. Le ratio graine/fruit a peu varié avec une moyenne de 0,70. Le poids de 100 graines a varié de 63,68 à 77,83 g et la longueur des graines de 17,89 à 19,15 mm. Le poids de 100 graines le plus élevé (77,83 g) a été enregistré dans l'accession de Mampatim collectée en haute Casamance. Les valeurs des traits des graines ont été plus élevées dans les accessions de la zone soudanienne tandis qu'elles étaient faibles dans les accessions de la zone soudano-sahélienne. Une forte variabilité des traits des graines dans la même zone agroclimatique a été observée. Les anciennes plantations de J. curcas sont plus rencontrées dans les zones Centre, Sud et côtières du Sénégal où l'espèce est bien connue par les populations. Par contre, l'espèce peu connue au dessus de l'isohyète 400 mm. Aucune ancienne plantation n'a été observée à l'extrême nord du Sénégal. Au regard de la large diffusion de *I. curcas* en Casamance, zone la plus pluvieuse du Sénégal, et la haute valeur des traits des graines collectées dans cette zone on peut conclure que sa culture à des fins de biodiesel exige une pluviométrie suffisante ou une irrigation de complément.

Mots clés : *Jatropha curcas*, traits des graines, distribution, Sénégal Abstract

A thorough and extensive germplasm exploration survey was undertaken in 2010 to assess the distribution and variability in seed traits of *Jatropha curcas* L. in Senegal. Nineteen accessions from different agro ecological zones of the country were collected to evaluate variability in seed characters. Trees aged at least 5 years only were considered. Among the seed traits studied, 100 seed weight ranged from 63.68 to 77.83 g and seed length from 17.89 to 19.15 mm. The highest 100 seed weight (77.83 g) was recorded in the accession Jc-16 collected from Mampatim. Accessions from Soudanian zone showed high values of seed traits while low seed traits were recorded in Soudano-Sahelian zone. Variability in seed traits was not linked to geographic location. Old plantations of *Jatropha curcas* are spread in the central, south and coastal zones of Senegal where the species is well known by the populations. However, the species was least represented above 400 mm isohyet and unfamiliar. No old plantation was observed in extreme north of Senegal.

Key words: Jatropha curcas L., Distribution, Seed traits, Senegal

2.1 Introduction

Jatropha curcas (J. curcas) est une espèce originaire de l'Amérique tropical et est de nos jours cultivée sous les tropiques en Afrique et en Asie (Heller, 1996). Au Sénégal, elle est largement diffusée dans le pays et colonise des zones écologiques variées. La large distribution géographique d'une espèce végétale correspond le plus souvent à une large gamme de variations anatomique, physiologique, morphologique et génétique qui lui permettent de survivre et de se reproduire dans des conditions environnementales variées (Antonovics, 1971; Nienstaedt, 1975). De telles variations ont été rapportées pour Azadirachta, Acacia, Prosopis (Kaura et al., 1998; Goel et Behl, 2001 ; El Amin et al., 2006). Une large variabilité du poids 100 graines et de la teneur en huile des accessions de J. curcas collectées ont été observées dans différentes régions en Inde (Ginwal et al., 2005 ; Wani et al., 2006 ; Kaushik et al., 2007 ; Rao et al., 2008). Des études antérieures ont montré que les graines ayant un poids élevé sont riches en huile, présentent une meilleure vigueur à la levée et les plants qui en sont issus présentent une meilleure croissance (Ponnammal et al., 1993; Kaushik et al., 2001; Kaushik et al., 2003 ; Halilu et al., 2011). Par ailleurs, ces plants nécessitent peu d'entretien à la phase d'installation ce qui permet de réduire les coûts de mise en place des plantations. L'étude des traits des graines de plante oléagineuse de population naturelle est souvent considérée comme utile dans l'évaluation de la variabilité génétique (Mohapatra et al., 2010). C'est une première étape vers l'étude de la diversité génétique et elle nécessite peu de moyen. Notre travail a été entrepris pour caractériser la variabilité morphométrique des graines de *I. curcas* collectées dans différentes zones agro écologiques du Sénégal. J. curcas étant cultivée pour l'huile de ses graines (convertible en biodiesel), la connaissance de la variabilité des traits des graines est un apport substantiel à la sélection de variétés améliorées économiquement rentable.

2.2 Matériel et méthodes

Plusieurs prospections de J. curcas ont été effectuées à travers le Sénégal en 2010. Des fruits mûrs de 19 accessions de *I. curcas* réparties dans trois zones agro-écologiques du Sénégal ont été collectés (Figure 2.1.). Les conditions climatiques des zones de collecte sont représentées dans le tableau 2.1. Les fruits ont été collectés sur au moins dix pieds par accession, le plus distants possibles (plus de 10 m) et de façon aléatoire afin de collecter le maximum de la variabilité locale. Dans ce travail, le terme "accession" est l'ensemble des fruits de différents pieds appartenant à une même haie vive ou les fruits des pieds isolés d'un même champ ou village. Afin d'explorer la variabilité locale, la collecte a été effectuée sur des pieds âgés de plus de 5 ans pour éviter de collecter les nouvelles introductions en 2007 du programme national biocarburant. Les accessions étaient distantes d'au moins 20 Km. Les fruits ont été bien étiquetés pour conserver l'identité de chaque accession. Les coordonnées géographiques des sites de collecte ont été enregistrées à l'aide d'un GPS (Global Positionning System). Les fruits ont été séchés en serre jusqu'à poids constant dans les mêmes conditions de température (25-30°C) et d'humidité (60%). Pour déterminer le ratio poids graine sur poids fruit (graine/fruit), 3 lots de 20 fruits chacun, ont été pesés de même que les graines qui y ont été extraits manuellement. Le ratio graine/fruit a ensuite été déterminé en divisant le poids des graines par le poids des fruits du lot correspondant. Trois lots de 100 graines, saines et non endommagées, de chacune des accessions ont été pris au hasard et les traits des graines (longueur, largeur, épaisseur) ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse électronique (Dario DMV-SL 05, précision 0,01 mm). Cinq lots de 100 graines par accession ont été pris au hasard pour déterminer le poids 100 graines à l'aide d'une balance électronique (Adventurer Pro AV2102, précision 0,01 g).

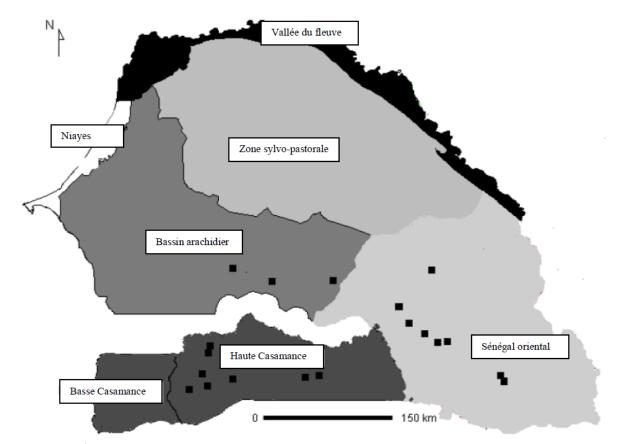


Figure 2.1. Zones agro-écologiques du Sénégal et sites de collecte. Carte adaptée de la carte du centre national de suivi écologique (CSE, 1996)

Tableau 2.1. Cordonnées géographiques et caractéristiques climatiques des sites de collecte de *J. curcas*

Localité	Code localité	Latitude (°N)	Longitude (°W)	Altitude (m)	Pluviométrie (mm)*	Temp. °C (min-max)
	Jc-1	14,04	15,14	31	600-700	35,51-21,73
Maleme thialene Hamdalaye pont	Jc-2	13,37	13,35	30	1000-1200	35,51-21,75
Barkeyel	Jc-3	13,28	13,27	80	1000-1200	35,51-21,75
Dialakoto	Jc-4	13,18	13,17	61	1000-1200	35,51-21,73
Medina Maka	Jc-5	13,13	13,08	62	1000-1200	35,51-21,73
Bantancountou	Jc-6	13,15	13,04	52	1000-1200	35,51-21,73
Niemeniké	Jc-7	12,52	12,21	103	1000-1200	34,73-22,2
Mako fokola	Jc-8	12,5	12,21	83	1000-1200	34,73-22,2
Bala	Jc-9	14,01	13,09	81	400-500	35,51-21,73
Faskoto	Jc-10	13,54	14,12	58	400-500	35,51-21,73
Djeydina	Jc-11	13,12	15,31	112	1000-1200	33,69-20,22
Sare alpha	Jc-12	13,06	15,35	50	1000-1200	33,69-20,22
Sefa soukototo	Jc-13	12,49	15,34	52	1000-1200	33,69-20,22
Yacine madina	Jc-14	12,46	15,44	30	1000-1200	33,69-20,22
Dabo	Jc-15	12,52	14,28	40	1000-1200	35,13-20,06
Mampatim	Jc-16	12,53	14,2	64	1000-1200	35,13-20,06
Maka	Jc-17	12,5	15,17	21	1000-1200	35,13-20,06
Diaroume	Jc-18	12,71	15,56	40	900-1100	35,13-20,06
Ndawene	Jc-19	13,56	14,49	29	600-700	35,51-21,73

^{*} Salack et al. (2011)

3.3 Analyse statistique

La variabilité de chaque trait des graines a été partitionnée en variation due à des facteurs environnementaux et en variation due aux facteurs génétiques selon la formule de Jonhson *et al.* (1955). Les coefficients de variation phénotypique (CVP) et génotypique (CVG) ont été calculés comme suggéré par Burton (1952). L'héritabilité au sens large a été calculée selon Allard (1999) ; c'est-à-dire le ratio de la variance génotypique (Vg) sur la variance phénotypique (Vp). Le gain génétique (5%) exprimé en pourcentage de la moyenne a été estimé selon Johnson *et al.*, (1955). Le logiciel Arcview 3.2 a servi à la réalisation de la carte des sites de collecte.

3.4 Résultats

J. curcas est principalement rencontrée au Sénégal dans les zones du Sud, du centre et des Niayes. Plusieurs plantations anciennes ont été rencontrées dans les régions de Zinguinchor et de Fatick (Figure 2.2.). L'espèce est bien connue dans ces localités où elle est utilisée comme haie vive pour délimiter des propriétés ou protéger des champs ou sous forme de pieds isolés dans les champs ou dans les cours. J. curcas est connue sous le nom de "Tabanani" mais dans certains villages, la plante est connue sous les dénominations "Kidi" ou "Touba taba". Aucune ancienne plantation de plus de 5 ans n'a été rencontrée à l'extrême nord du pays. Dans certains villages, l'huile de J. curcas est utilisée par les femmes comme matière première dans la fabrication de savon. D'après les informations que nous avons recueillies, J. curcas est principalement multipliée par bouture pour construire des haies vives de protection ou de délimitation.

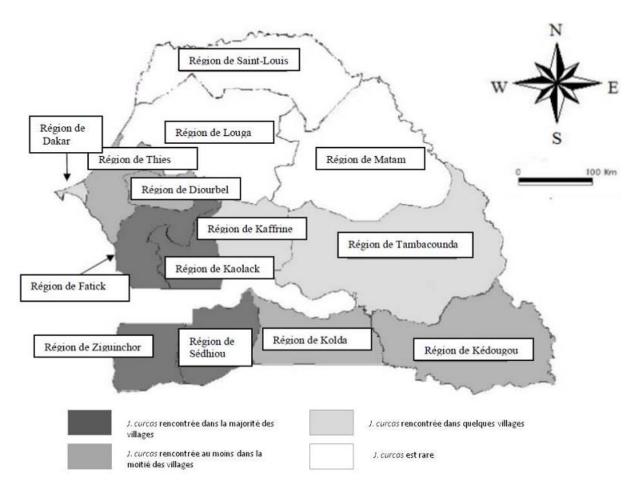


Figure 2.2. Répartition des plantations de *J. curcas* âgées de plus de 5 ans en 2010 au Sénégal.

Selon certaines personnes que nous avons interrogées, *J. curcas* est une plante médicinale et traite différentes maladies. Certains ont souligné que *J. curcas* est utilisée pour soigner les plaies et les maux de dents. Le latex est utilisé pour traiter les infections des gencives.

3.4.2 Traits morphométriques des graines de J. curcas

L'accession a eu un effet significatif sur les traits des graines (P ≤0,01). Le poids 100 graines a varié de 63,68 à 77,83 g avec une moyenne de 71,42 g. Le poids le plus élevé (77,83 g) a été enregistré dans l'accession Jc-16 de la haute Casamance suivie de Jc-10 (76,16 g) du bassin arachidier (Table 2.2.). Le poids le plus faible (63,68 g) a été enregistré dans l'accession Jc-19 du bassin arachidier. La longueur moyenne des graines était de 18,61 mm avec une valeur maximale de 19,15 mm mesurée dans l'accession Jc-10 et une valeur minimale de 17,89 mm observée dans l'accession Jc-19 du bassin arachidier. La largeur moyenne des graines est de 11,12 mm tandis que l'épaisseur moyenne est de 8,7 mm. En général, des valeurs élevées des traits des graines ont été enregistrées dans les accessions de la haute Casamance où la pluviométrie avoisine 1100 mm. De faibles valeurs des traits des graines ont été enregistrées dans les accessions telles que Jc-10 du bassin arachidier ont eu des graines de grande taille. Nous avons aussi noté des graines de petite taille avec l'accession Jc-12 de la haute Casamance.

La moyenne du ratio poids graine sur poids fruit était de 70%. Le plus grand ratio graine/fruit (0,73) a été enregistrée dans l'accession Jc-05 et le plus faible (0,63) dans l'accession Jc-01. Le ratio graine/fruit a peu varié avec des valeurs presque similaires pour toutes les accessions. Le coefficient de variation phénotypique (CVP) et le coefficient de variation génotypique (CVG) sont représentés dans le tableau 2.3. Les valeurs les plus élevées du CVP (5,12%) et du CVG (4,59%) ont été enregistrées avec le poids des graines. Les valeurs les plus faibles de CVP (1,04%) et de CGV (0,96%) ont été observées avec la largeur des graines. Le ratio graine/fruit a un CVP et CVG plus élevés comparés aux autres traits des graines exceptées le poids 100 graines. La plus faible valeur de l'héritabilité au sens large (76,87%) a été enregistrée avec le ratio graine/fruit tandis que les autres traits des graines ont montré une héritabilité supérieure à 89,59%. Le gain génétique a été supérieur à 9,45% pour le poids des graines avec la valeur la plus faible (1,97%) observée avec la largeur des graines.

Tableau 2.2. Caractéristiques des graines et ratio graines/fruits des 19 accessions de *J. curcas* L.

Code accession	Poids 100 graines (g)	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Epaisseur (mm)	Ratio Graine/Fruit (m/m)
Jc-01	65,03	18,36	10,94	8,84	0,63
Jc-02	70,39	18,55	11,02	8,62	0,71
Jc-03	71,94	18,38	11,13	8,63	0,69
Jc-04	70,9	18,41	11,25	8,64	0,72
Jc-05	73,97	18,82	11,09	8,65	0,73
Jc-06	74,09	18,86	11,02	8,66	0,70
Jc-07	68,89	18,65	11,21	8,61	0,69
Jc-08	72,76	18,63	11,02	8,46	0,71
Jc-09	69,09	18,27	11,15	8,56	0,71
Jc-10	76,16	19,15	11,11	8,61	0,68
Jc-11	72,64	18,86	11,18	8,77	0,71
Jc-12	68,65	18,45	11,02	8,68	0,70
Jc-13	7 4, 97	18,55	11,15	8,76	0,71
Jc-14	69,45	18,59	11,06	8,90	0,69
Jc-15	75,66	18,65	11,01	8,78	0,68
Jc-16	77,83	19,02	11,36	8,91	0,70
Jc-17	69,47	18,69	11,29	8,97	0,72
Jc-18	71,37	18,76	11,24	8,88	0,71
Jc-19	63,68	17,89	10,97	8,45	0,70
SE	0,51	0,04	0,02	0,02	0,00

SE: erreur standard

3.4.3 Corrélation entre les traits des graines morphologiques de J. curcas

Une corrélation significative a été enregistrée entre les traits morphologiques des graines des accessions (Tableau 2.4). Tous les coefficients de corrélation étaient positifs. La longueur des graines était significativement corrélée à tous les traits mesurés excepté le ratio graine/fruit. De même, la largeur des graines était corrélée à la plupart des traits. Le dendrogramme de liaison complète basé sur le carré de la distance euclidienne entre les différents traits mesurés a montré 5 groupes (Figure 2.3). Le groupe III (en vert) et le groupe IV (en bleu) sont morphologiquement quasi similaires (63,06%) et regroupent à eux seuls 14 des 19 accessions analysées dont 9 sont du groupe IV. Le groupe II (en jaune) est formé d'une seule accession et a été proche du groupe I (en rouge) qui a groupé 2 accessions. Les groupes I et V du dendrogramme sont les plus distants. Le groupe I collecté dans le basin arachidier présente des valeurs de largeur plus élevées et un ratio grain sur fruit supérieur. Le groupe V présente des valeurs de longueur des graines et de poids 100 graines les plus élevées.

Tableau 2.3. Estimation des variables génétiques des traits des graines des accessions de *J. curcas*

	Variance		Coefficient de variation (%)		Héritabilité	Gain génétique
Trait des graines	Phénotypique	Génotypique	Phénotypique	Génotypique	(au sens large)	(5%)
Poids 100 graines (g)	13,3300	10,7000	5,1254	4,5920	0,8027	9,4596
Longueur (mm)	0,0907	0,0830	1,6194	1,5491	0,9151	3,1912
Largeur (mm)	0,0135	0,0114	1,0470	0,9604	0,8414	1,9784
Epaisseur (mm)	0,0218	0,0198	1,6943	1,6162	0,9098	3,3293
Graine/Fruit (m/m)	0,0004	0,0002	2,7979	2,1507	0,5909	4,4305

Tableau 2.4. Coefficient de corrélation de Pearson entre les traits des graines de J. curcas

Trait des graines	Longueur	Largeur	Epaisseur	Poids 100 graines
Largeur	0,3654**			
Epaisseur	0,4214**	0,3961**		
Poids 100 graines	0,5930**	0,1917	0,1947	
Ratio Graine/Fruit	-0,0269	0,2509*	-0,1411	0,1083

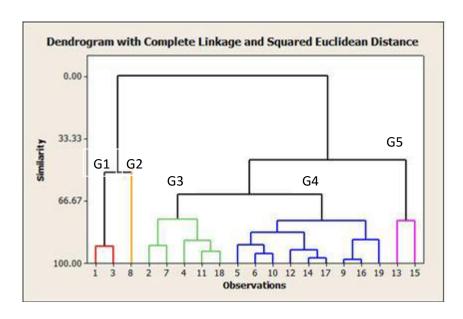


Figure 2.3. Dendrogramme construit sur la base des traits des graines de 19 accessions de *J. curras* collectées au Sénégal

3.5 Discussion

Au Sénégal, *J. curcas* est bien connue des populations du sud, du centre et de la zone des Niayes où elle est largement diffusée. L'espèce est en particulier populaire au sud du pays (Casamance) où elle serait probablement introduite à partir de la Guinée Bissau. *J. curcas* a été introduite par des marins portugais depuis l'Amérique tropicale au Cap vert et en Guinée Bissau puis à travers

l'Afrique et l'Asie (Heller, 1996). Selon Berhaut (1967), elle est bien connue au Sénégal sous différentes dénominations telles que « Tabanani », « Kidi ». Dans un même pays ces dénominations dépendent souvent des localités en témoigne l'appellation « Touba Taba » que nous avons notée lors de nos prospections.

Nous avons enregistré une forte variabilité des traits morphologiques des graines des différentes accessions de J. curcas collectées. Le poids 100 graines a varié de 63,68 à 77,83 g. Des résultats similaires ont été obtenus au Nigeria par Halilu et al. (2011) qui ont rapporté que le poids 100 graines de leur échantillon variait de 28,56 à 80,05 g. Cette variabilité pourrait s'expliquer d'une part par la variabilité des conditions environnementales des sites de collecte et d'autre part par la diversité génétique de J. curcas au Sénégal (Diédhiou et al., 2012). Les accessions de J. curcas ont été collectées dans différentes zones agro écologiques qui présentent différentes conditions climatiques et des caractéristiques édaphiques variées. Les caractéristiques du sol et du climat des sites de collecte sont considérées comme des facteurs influant sur les traits des graines (Salazar et Quesada, 1987). Les groupes I et V regroupent des accessions collectées dans le basin arachidier et en Casamance respectivement. Il est possible que les conditions climatiques (pluviométrie et température) aient contribué à cette différentiation morphologique. De telles variations des traits des graines en fonction de l'habitat des pieds mères ont été rapportées chez J. curcas (Ginwal et al., 2005 ; Kaushik et al., 2007) et chez d'autres espèces (Gera et al., 1976 ; Jindal et al., 1999 ; Kumar et al., 2004). Selon Mathur et al., (1984), la variabilité des traits des graines serait une réponse d'adaptation à différentes gamme de conditions climatiques prévalant dans les sites de collecte. Cependant, les conditions environnementales ne peuvent pas être les seuls facteurs à l'origine de la forte variabilité des traits des graines que nous avons observée. Une partie de la diversité observée pourrait avoir un déterminisme génétique. En effet, des accessions de *J. curcas* bien qu'appartenant à la même zone agro-écologique, ont des graines de taille différentes. Cette hypothèse est corroborée par la faible différence entre les valeurs de la variance phénotypique et génotypique. Aussi les valeurs élevées d'héritabilité observées montrent que des facteurs génétiques seraient probablement à la base d'une partie de la diversité des traits des graines. Le rôle relatif de l'hérédité et de l'environnement dans l'expression des traits des graines de J. curcas a été rapporté par Kaushik et al., (2007). Tous les traits des graines excepté le ratio graine/fruit ont montré une héritabilité supérieure à 80%.

En comparant la variabilité des traits des graines, nous avons noté que le poids 100 graines présente la plus forte variabilité. Le gain génétique (5%) du poids des 100 graines était le plus élevé. Une héritabilité et un gain génétique élevé du poids des graines ont aussi été notés avec *J. curcas* en Inde (Kaushik et al., 2007). Il pourrait donc avoir des possibilités d'amélioration du caractère poids des graines à travers la sélection. Par ailleurs, dans des travaux antérieurs (Ponnammal et al., 1993, Kaushik et al., 2001; Kaushik et al., 2003), les graines de poids élevé ont présenté les meilleurs taux de germination et de croissance au jeune âge. De plus, Halilu et al., (2011) ont souligné que le poids 100 graines était positivement corrélé à la teneur en huile des graines. La corrélation positive observée entre les traits des graines favoriserait l'amélioration simultanée de ces traits à travers la sélection. Le poids 100 graines a été corrélé à la longueur des graines. Des résultats similaires ont été obtenus par Mohapatra et Panda (2010). Ces auteurs ont rapporté une corrélation positive entre la longueur des graines et le poids 100 graines. La longueur des graines a été significativement corrélée à la largeur et à l'épaisseur des graines. Des résultats similaires ont été rapportés dans le cas de *Acacia catechu* (Ramchandra et al., 1996; Kumar et al., 2004). Une forte corrélation positive entre les traits des graines des accessions indique que les gènes qui gouvernent ces caractères sont

probablement liés ou ont un effet pléiotropique (Das et al., 2010). Une attention particulière devrait être accordée aux accessions dont les graines sont de grande taille dans les programmes de sélection futurs. L'accession de Mampatim, collectée à Kolda, et celle de Maka, collectée à Sédhiou sont les meilleures sur cet aspect.

Sur la base de la distribution des anciennes plantations de *J. curcas* au Sénégal, la Casamance, le Sénégal oriental et le sud du Bassin arachidier sont des zones favorables à la culture de *J. curcas* et où il serait peut être plus facile d'implanter des plantations. En effet *J. curcas* est bien connue par les populations de ces zones où elle est plantée en haie vive ou en pieds isolés. Par ailleurs, sa présence dans ces zones montre que la plante s'adapte bien aux conditions climatiques et édaphiques de ces milieux.

Le dendrogramme construit sur la base des traits des graines n'a pas permis de regrouper ensemble les accessions de la même zone agro écologique. En effet, les accessions de la haute Casamance (au sud), du bassin arachidier (au centre) et du Sénégal oriental sont regroupées ensemble. Des résultats similaires ont été obtenus par Kaushik et al. (2007) sur J. curcas et par Saini et al. (2004) sur Cyamopsis tetragonaloba. Cependant, à un seuil de 45% de similarité, deux principaux groupes sont observés sur le dendrogramme. Le premier groupe est formé d'accessions de la zone soudano sahélienne où la pluviométrie est comprise entre 500 et 900 mm, et le second formé d'accessions de la zone soudanienne où la pluviométrie avoisine 1100 mm (FAO, 2007). Ce deuxième groupe rassemble les accessions présentant des graines de grande taille. On peut donc déduire que les zones les plus humides au Sénégal (en Casamance) seraient plus favorables à la formation de graines de J. curcas à poids plus élevé et probablement seraient les zones les plus favorables à la culture de J. curcas. Selon Maes et al. (2009) les plantations de J. curcas dans les zones arides et semi arides courent le risque d'une faible productivité ou nécessiteraient une irrigation de complément. Ces auteurs ont en effet observé au cours de leurs prospections que les populations naturelles de J. curcas sont rares dans les régions arides et semi arides.

3.6 Conclusion

Au Sénégal, *J. curcas* est largement diffusée au sud, au centre et dans la zone des Niayes où elle est bien connue par les populations. Nos résultats ont révélé une forte variabilité des traits des graines des accessions locales de *J. curcas*. Les potentialités d'amélioration des traits des graines de *J. curcas* à travers la sélection sont donc réelles ; même s'il faut garder à l'esprit que les sources de variabilité sont aussi d'ordre climatique et édaphique. Sur la base de la distribution des plantations anciennes de *J. curcas* au Sénégal, la Casamance, le Sénégal oriental et le sud du Bassin arachidier sont des zones favorables à la culture de *J. curcas* et où il serait peut-être plus facile d'implanter des plantations. Une attention particulière devrait être accordée aux accessions dont les graines sont de grande taille dans les programmes de sélection futurs. Notre travail est simplement une indication des zones de diffusion et de la variabilité des traits des graines de *J. curcas* au Sénégal. Des travaux de recherche sont nécessaires pour identifier des génotypes locaux à haut rendement, à forte teneur en huile et ayant une forte habilité à croître et à se développer sous les conditions climatiques qui prévalent au Sénégal.

Chapitre 3.

Comportement germinatif d'accessions locales de Jatropha curcas L

Une partie de ce chapitre a fait l'objet de publications.

Article de revue (annexe 3)

Ouattara B., Diédhiou I., Ndoye K. Diouf D., Akpo E. L., 2011: Effect of water regimes and pre-sowing treatments on seeds germination of different provenances of *Jatropha curcas L*. in Senegal. *International Journal of Science and Advanced Technology*. Vol: 1(9), 151-156.

Posters (annexe 4 et annexe 5)

B. Ouattara I. Diédhiou, K.N. Ndir, D. Diouf, E.L. Akpo, J.D.Zongo: Etude du comportement germinatif et de la croissance de *Jatropha curcas* en relation avec la disponibilité de l'eau. Poster accepté pour être présenté à l'atélier final de RIPIECSA à Cotonou au Benin du 18 au 21 octobre 2011.

Bassiaka Ouattara, Ibrahima Diédhiou, Khadidiatou Ndoye Ndir, Diégane Diouf, Elie Léonard Akpo, Jean Didier Zongo: Diversité génétique et comportement germinatif de Jatropha curcas L. au Sénégal. Poster présenté à l'atélier de Biologie moléculaire et génétique végétale corganisé par l'IRD-Dakar et l'Ucad du 19 au 28 novembre 2012 à Dakar

Résumé:

Ce travail avait pour objectif d'étudier d'une part la capacité germinative de 19 accessions de J. curcas et d'autre part d'analyser les effets du régime hydrique et du trempage des graines dans l'eau avant semis sur la germination. La capacité germinative des accessions a été évaluée sur un sol Diordeck dans un dispositif en blocs complets randomisés à trois répétitions de 20 graines. Dans une expérimentation distincte, les effets du régime hydrique et du prétraitement des graines ont été évalués dans un dispositif en split-split-plot avec 3 répétitions de 10 graines. Trois facteurs ont été étudiés : le régime hydrique (facteur principal, à trois niveaux : 100%, 50% et 25% de la capacité au champ), l'accession (le secondaire, à deux niveaux) et le prétraitement des graines (facteur tertiaire, à deux niveaux). L'étude a été réalisée en serre (25-35° C, 60% d'humidité relative). Les meilleures germinations ont été enregistrées pour les accessions dont les graines étaient de grande taille, majoritairement collectées au sud. L'immersion des graines de J. curcas dans l'eau avant semis a amélioré significativement (P<0,01) la vitesse et le pourcentage de germination. Les premières graines germées ont été enregistrées 3 jours après semis. Le régime hydrique a eu un effet significatif sur le pourcentage de germination. Les meilleures germinations ont été observées à 50% de la capacité au champ (52,5%) et à 25% de la capacité au champ (31,67%). Pour l'ensemble des facteurs régime hydrique et prétraitement des graines, l'accession de la zone soudanienne (Jc-16) a montré la meilleure germination (47,78%) comparée à celle de la zone soudano sahélienne (16,94% de germination). La meilleure germination (80%) a été observée à 50% de la capacité au champ avec les graines de Jc-16 immergées pendant 12 h avant semis. Ces résultats montrent que les mois les plus pluvieux ne sont pas indiqués pour semer les graines de J. curcas au champ.

Mots clés : *J. curcas*, germination, immersion de graines, régime hydrique, Sénégal Abstract

This study aimed at one hand analyzing the germination capacity of 19 accessions of *J. curcas* and the other hand exploring the effects of water regimes and pre-sowing treatments on germination of J. curcus. In analyzing the germination capacity of accessions, the layout was randomised complete blocs design with 3 replications, 20 seeds per replication. The effects of water regime and pre-sowing treatments were assessed in a split-split-plot design with 3 replications. The main factor was water regime; the second was accession and the third, seed pretreatment. Ten seeds per treatment were used. Three water regimes were considered: 100%, 50% and 25% field capacity. Two Accessions of *J. curcas* were used. The study was done in green house (25-30°C, 60% humidity). Germination capacity was function of accession and more germination was recorded in accession with high seed traits values, most collected in the southern. Our results revealed that soaking J. curcas seeds for 12h significantly (P<0.01) enhanced seed germination parameters. The first germinations were recorded 3 days after sowing. Water regime treatment had significant effect on the final germination percentage. Higher germination (52.5%) was observed at 50% field capacity followed by 25% field capacity treatment with 31.67%. The accession of Sudan zone (Jc-02) showed the higher germination (47.78%) whereas accession of Sudan-sahel zone Jc-01 had 16.94%. The best germination percentage (80%) was observed in 50% field capacity at T1 treatment with Jc-02 accession. The results suggested that months with high rainfall are not indicated to sow J. curcas seeds in field.

Key words: Jatropha curcas L., germination percentage, germination rate, pre-sowing treatment, water regimes, Senegal

Introduction

Du point de vue physiologique, Evenari (1957) définit la germination comme étant « un processus physiologique dont les limites sont le début de l'hydratation de la semence et le tout début de la croissance de la radicule». La germination est donc considérée comme étant le passage d'une semence inerte (vie ralentie) à une jeune plantule autotrophe. Elle dépend de facteurs intrinsèques (maturité morphologique et physiologique de la graine) et extrinsèques (eau, température, oxygène, lumière, nature du sol) à la graine. Pour une même espèce, la germination peut dépendre de l'origine géographique (sol, photopériode, les conditions climatiques), de la date de récolte, des conditions de conservation, des dimensions de la graine (Muller and Laroppe, 1993; Kaushik et al., 2007). Par conséquent, disposer de graines de bonne qualité et connaître les meilleures conditions de germination permettent de réussir la mise en place de plantations de J. curcas à moindre coût. En effet, le semis direct au champ est la méthode la plus facile et la moins coûteuse dans la mise en place de plantations et sa réussite dépend étroitement de la capacité germinative des graines utilisées. Par ailleurs, le semis direct est la méthode de plantation utilisée traditionnellement par les paysans et probablement celle qu'ils maîtrisent le mieux. Dans le cas de J. curcas il donne des plants d'excellente qualité car dotés d'un système racinaire profond (Soares Severino, 2007) et par conséquent, ces plants pourraient tolérer des périodes de longue sécheresse. Ainsi, pour la mise en place d'une plantation de *J. curcas* destinée à la production d'huile végétale et exploitable sur plusieurs années, la plantation par semis direct est meilleure. Malheureusement, les graines de J. curcas présentent une germination médiocre ce qui rend difficile la mise au point de plantations par semis direct. De faibles taux de germination ont été rapportés (Islam et al., 2009). En Inde, généralement, 3 graines sont semées dans le même poquet pour s'assurer de la germination d'au moins une graine. Les raisons du faible taux de germination des graines de J. curcas sont liées à l'origine des graines d'une part et d'autre part à une inhibition tégumentaire due à leur coque dure (Holmes, 1987 ; Islam et al., 2009). Pour lever l'inhibition tégumentaire et obtenir une germination rapide et synchronisée, les graines peuvent être soumises à des prétraitements physique ou mécanique. Généralement, un prétraitement des graines avant semis vise à détruire rapidement l'intégrité de la coque imperméable ou à hydrater partiellement la graine et permettre l'imbibition de l'embryon. Ceci conduit à une meilleure germination comparée aux graines non prétraitées semées directement. De ce fait, la recherche de techniques de prétraitement permettant d'assurer une bonne germination des graines des espèces arbustives cultivées est importante pour réussir la phase d'installation des plantations. Outre, l'inhibition tégumentaire, au Sahel, les pauses pluviométriques récurrentes de début de saison des pluies pourraient être une contrainte majeure à la germination des graines de J. curcas au champ. Malheureusement, l'influence du stress hydrique sur la germination des graines de J. curcas est peu étudiée. C'est pourquoi, dans ce chapitre consacré à l'étude du comportement germinatif d'accessions locales de J. curcas, nous nous sommes fixés comme objectif de déterminer l'influence de prétraitements et du stress hydrique sur la germination des graines de I. curcas.

3.1.1. Expérimentation 1 : Analyse comparative de la capacité germinative de différentes accessions de *J. curcas* collectées au Sénégal

L'objectif de ce premier essai de germination a été de comparer la capacité germinative d'accessions locales de J. curcas en condition d'alimentation hydrique non limitative. L'hypothèse de travail était que la taille des graines et leur zone écologique d'origine auraient une influence sur la capacité germinative des accessions. Le matériel végétal est constitué des 19 accessions décrites dans le chapitre 2 (Tableau 2.2). Les caractéristiques des sites de collecte sont reportées dans le tableau 2.1. Avant semis, les graines ont été trempées dans l'eau froide, à 4°C, pendant 12 heures. Le semis a été réalisé sur un substrat sablo argileux de type Dior-Deck collecté au Centre National de Recherches Agricoles (CNRA) de Bambey. Des études effectuées en juin 1997 (Diouf, 2000) au laboratoire d'analyse de sol de l'ISRA ont montré que le sol du CNRA de Bambey est un sol de faible teneur en azote (0,16 à 0,19%) et en matières organiques (0,27 à 0,34%) qui, associées à une teneur faible en argile (3,5 à 5,6%), se traduisent par un complexe adsorbant pauvre (capacité d'échange cationique faible, 1,7 à 2,2 meq. 100 g-1) et un faible pouvoir tampon (pH acide). On note par ailleurs un fort pourcentage de sable (91-94%) se traduisant par une capacité de rétention hydrique peu élevée. Cependant les teneurs en phosphore (P) sont nettement au dessus des seuils de déficience. L'humidité au point de flétrissement permanent et la capacité au champ sont de 14 et 134,5 mm m⁻¹ respectivement, ce qui lui confère une réserve utile de l'ordre de 120 mm.m⁻¹ (Sarr et al. 1999).

L'essai a été mené en serre dans des pots de 30 L de volume et ayant une superficie 1256 cm² au bord. Le dispositif était en blocs complets randomisés à un facteur (l'accession) à trois répétitions de 20 graines. Les pots ont été arrosés avec l'eau de robinet tous les deux jours. La germination a été suivie pendant 14 jours et la graine a été considérée comme germée lorsque la radicule a émergé. Le dénombrement des graines germées a été effectué chaque jour, le matin, pendant toute la durée de l'essai (14 jours). Les données relevées ont permis de calculer le pourcentage de germination comme suit :

% germination = (Nbr de graines semées/Nbr de graines germées)*100

3.1.1. Expérimentation 2 : Effet du régime hydrique et du prétraitement des graines sur la germination de différentes accessions locales de *J. curcas* L.

L'objectif de ce second essai de germination était de déterminer l'effet du prétraitement des graines et du niveau d'arrosage sur la capacité germinative des graines de *J. curcas*.

Le matériel végétal était constitué de deux accessions locales de *J. curcas* collectées en 2010 dans deux zones différentes de culture de *J. curcas*, en zone soudanienne et sahélo soudanienne au Sénégal (Tableau 3.1). Il s'agit des accessions Jc-07 et Jc-16 décrites dans le chapitre 2 et dont les caractéristiques sont résumées dans le tableau 3.2. Ce choix se justifie par le fait que nous disposions de grande quantité de graines pour ces 2 accessions qui par ailleurs étaient assez contrastées pour ce qui des valeurs des traits des graines. Pour rappel, les fruits des deux accessions ont été collectés de façon aléatoire sur au moins dix pieds par accession.

Les fruits ont ensuite été séchés à l'air libre jusqu'à poids constant. Ils ont été décortiqués à la main et les graines conservées à température ambiante (25°C) avant le test de germination.

Tableau 3.1. Origines et dates de récolte des accessions de J. curcas utilisées

Code accession	Localité	Zone agro climatique	Latitude (°)	Longitude (°)	Pluviométrie annuelle (mm)*	Poids 100 graines (g)	Dates de récolte (2010)
Jc-07	Niemeniké	Sahélo- Soudanienne	12°52 N	12°21 O	500-900	68,89	21-oct
Jc-16	Mampatim	Soudanienne	12°53 N	14°20 O	900-1100	77,83	05-nov

Source: Agence national de météorologie du Sénégal, 2007

Le poids de 100 graines des provenances était de 69,26 g pour l'accession de la zone sahélo soudanienne et de 77,92 g pour la zone soudanienne (Tableau 3.2).

Tableau 3.2. Caractéristiques des graines de J. curcas utilisées.

Accession	Poids 100 graines (g)	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Epaisseur (mm)
Jc-07	69,26	18,65	11,21	8,61
	(0,087)	(0,017)	(0,010)	(0,008)
Jc-16	77,92	19,02	11,36	8,91
-	(0,014)	(0,009)	(0,004)	(0,006)

Les valeurs entre parenthèse représentent l'erreur standard sur les moyennes.

L'essai a été conduit dans la serre (27± 5° C) du CERAAS. Le dispositif expérimental était un split-split-plot à 3 répétitions. Trois facteurs on été étudiés : le régime hydrique (facteur principal) à trois modalités (100%, 50% et 25% de la capacité au champ), l'accession (facteur secondaire) à deux modalités (Jc-07 et Jc-16) et le prétraitement des graines (facteur tertiaire) à deux modalités (graines prétraitées et non prétraitées). Le prétraitement a consisté à immerger les graines de *J. curcas* dans l'eau tiède pendant 12 heures avant semis. Dans cette deuxième expérimentation, l'eau tiède a été utilisée pour le prétraitement des graines car plus accessible.

Dix graines par traitement ont été semées à une profondeur d'environ 1 cm sur un substrat de type Dior Deck (collecté au CNRA de Bambey). Les pots expérimentaux ont été arrosés tous les deux jours avec une quantité équivalente à celle évaporée afin de les maintenir au régime hydrique souhaité. La quantité d'eau à apporter dans chaque pot était égale à la différence de poids entre le poids initial du pot et son poids pris juste avant l'arrosage. La graine a été considérée comme germée que lorsque la radicule a émergé.

Les mesures ont consisté à dénombrer toutes les 24 heures (le matin à 9 h), les graines ayant germées dans chaque pot. Ces données ont permis de calculer les paramètres suivants :

• le pourcentage final de germination (PG) calculé suivant la formule :

PG = (nombre de graines germées/nombre totale de graines semées)*100,

- la durée, en nombre de jours, entre le semis et l'observation de la première graine germée (délai de germination),
- le temps moyen de germination (TMG) qui est un indicateur de la vitesse de germination, dont les faibles valeurs indiquent une germination rapide (Muhammad and Amusa, 2003, Yasemin, 2008). Le TMG a été calculé suivant la formule :

$$TMG = \sum_{n_n t_n} I_n I_n$$

 n_n est le nombre de graines germées au énième jour après semis, t_n est la durée, en nombre de jours, du semis au énième jour après semis et x_n le nombre total de graines germées à la fin de l'essai.

3.2 Analyse statistique

Le logiciel Excel 2007 a servi à la saisie et à l'arrangement des données. L'analyse de la variance (au seuil de 5%) a été effectuée à l'aide du logiciel Minitab 14 pour déterminer l'effet des facteurs étudiés. Le test de Tukey au seuil de 5% a été effectué pour la comparaison des moyennes.

3.3 Résultats

3.31. Capacité germinative des graines de *J. curcas* collectées dans différentes zones agro-climatiques du Sénégal

Le facteur accession a eu un effet significatif sur la capacité germinative des graines de *J. curcas*. Le pourcentage de germination a varié de 0 à 93% avec une moyenne de 31,41% (Figure 3.1). L'accession qui a présenté 93% de germination a été collectée dans la région de Kolda (Casamance) tandis que l'accession de Hamdalaye Pont, collectée dans la région de Tambancounda (Sénégal oriental) n'a pas germé. Les meilleurs pourcentages de germination ont été observés pour les accessions dont les poids de 100 graines étaient les plus élevés. Par exemple, les accessions de Dabo et de Mampatim dont le poids de 100 graines était respectivement de 75,66 g et 77,83 g ont enregistré un pourcentage de germination de 93 et 80,33% respectivement. Cependant, des accessions comme Hamadalaye Pont, Dialakoto ont enregistré de faibles pourcentages de germination bien qu'ayant un poids de 100 graines élevé (70,39 g et 70,9 g respectivement), comparé au pourcentage de germination (41,67%) enregistré dans l'accession Malème Thialème dont le poids de 100 graines était de 65,03 g.

Le facteur zone de collecte a également eu un effet significatif sur la capacité germinative des graines (Tableau 3.3). Les accessions de la haute Casamance ont enregistré les meilleurs pourcentages de germination (54,19% en moyenne) tandis que la germination a été faible pour les accessions collectées dans le bassin arachidier (25,36% en moyenne).

Tableau 3.3. Résultat de l'analyse de la variance au seuil de 5%.

Sources de variation	Degré de liberté	Probabilité

Accession	18	0,000
Zone de collecte	1	0,002

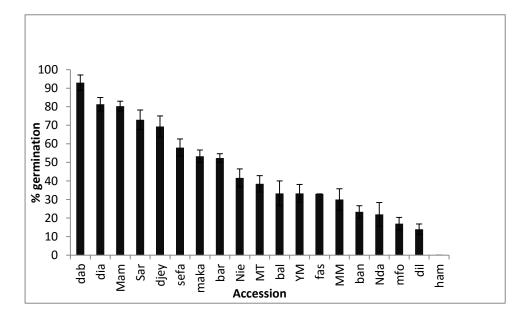


Figure 3.1. Pourcentage final de germination des accessions de *J. curcas* enregistré 14 jours après semis. Dab, Dabo ; Dia, Diaroumé ; Mam, Mampatim ; Sar, Saré Alpha ; Djey, Djeydina ; Sefa, Sefa Soukoutoto ; Bar, Barkeyel ; Nie, Niéméniké ; MT, Malème Thialème ; Bal, Bala ; YM, Yacine Madina ; Fas, Faskoto ; MM, Medina Maka ; Ban, Bantancountou ; Nda, Ndawène ; mfo, Mako foukola ; dil, Dialakoto ; Ham, Hamdalaye Pont.

3.3.2. Effet du régime hydrique et du prétraitement des graines sur la germination de deux accessions locales de *J. curcas* L.

Effet des différents traitements sur la capacité germinative des graines de J. curcas

La germination de *J. curcas* a commencé 3 jours après semis et a continué au-delà de 14 jours après semis. L'analyse de la variance (au seuil de 5%) a montré un effet significatif du facteur prétraitement des graines sur la capacité germinative des graines (Tableau 3.4).

Tableau 3.4. Résultats de l'Analyse de variance réalisée sur le taux et le pourcentage de germination.

Probabilité

Facteur	DL	TMG	PG
Acc.	1	0,835 ns	0,000**
RH.	2	0 , 278ns	0,000**
Prétraitement	1	0,002**	0,007**
Acc.*RH	2	0,020*	0,003**
Acc.*Prétraitement	1	0,025*	0,501ns
RH* Prétraitement	2	0,012*	0,072ns
Erreur	26	_	_
Total	35	_	_

DL : dégrée de liberté ; TMG : temps moyen de germination, PG : pourcentage de germination ; Acc. Accession, RH : régime hydrique ; ns : différence non significative, * effet significatif au seuil de 5%, ** effet significatif au seuil de 1%.

Les graines immergées avant semis ont germé plus vite, le temps moyen de germination (durée semis-germination) pour ces graines prétraitées était réduit comparé à celui des graines semées directement (Figure 3.2). L'interaction entre le facteur prétraitement et l'accession a été significative sur le temps moyen de germination. Les graines de Jc-07 ne germent plus vite que les graines de Jc-16 que lorsqu'elles sont immergées au préalable dans de l'eau pendant 12 h (Figure 3.2).

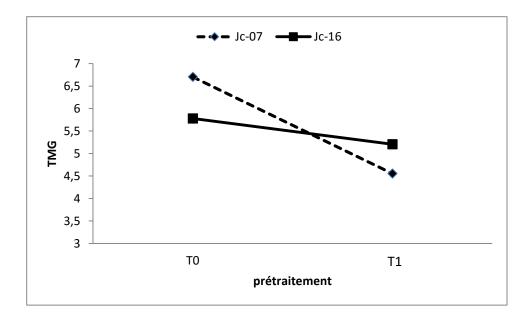


Figure 3.2. Interaction entre l'accession et le prétraitement des graines sur le temps moyen de germination (TMG). Jc-07 accession de la zone soudano-sahélienne, Jc-16 : accession de la zone soudanienne. T0 graines semées directement, T1 graines immergées dans l'eau tiède pendant 12 h avant semis.

L'interaction entre l'immersion des graines et le régime hydrique a aussi été significative (Tableau 3.4). Lorsque le semis est fait directement sans que les graines ne soient au préalable immergées dans l'eau, la germination est plus rapide à 50% de la capacité au champ alors qu'elle est

plus rapide à 25% de la capacité au champ avec les graines immergées dans l'eau avant semis (Figure 3.3).

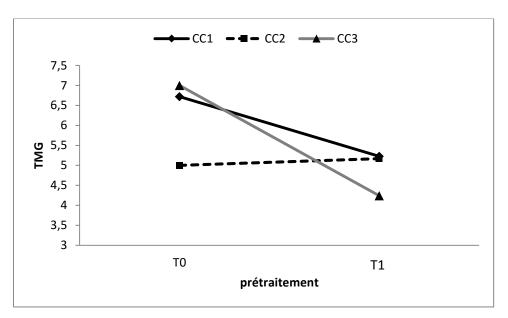


Figure 3.3. Effet du régime hydrique sur le temps moyen de germination (TMG) de graines de *J. curcas*. CC1: 100% de la capacité au champ; CC2 50% de la capacité au champ et CC3 25% de la capacité au champ. TG: taux de germination, T0 graines semées directement, T1 graine immergées à l'eau tiède pendant 12 h avant semis.

Effet des différents traitements sur le pourcentage de germination

L'immersion des graines avant semis a augmenté le pourcentage de germination de 26,94% à 36,78%, tous les régimes hydriques et accessions confondus (Figure 3.4).

Le régime hydrique a un effet significatif sur la germination des graines de *J. curcas*. Le pourcentage de germination le plus élevé, toutes accessions confondues (52,57%) a été observé dans le régime hydrique 50% de la capacité au champ, statistiquement différent de celui observé à 25% de la capacité au champ (31,67%). Le plus faible pourcentage de germination a été observé à 100% de la capacité au champ (12,92%) toutes les accessions confondues. L'accession Jc-16 a enregistré la meilleure germination sous tous les régimes hydriques (Figure 3.5).

Toutes les accessions ont montré le maximum de germination à 50% de la capacité au champ. Le meilleur pourcentage de germination (80%) a été enregistré pour les graines de Jc-16 immergées dans l'eau 12 h avant semis et semées sur le substrat maintenu à 50% de la capacité au champ.

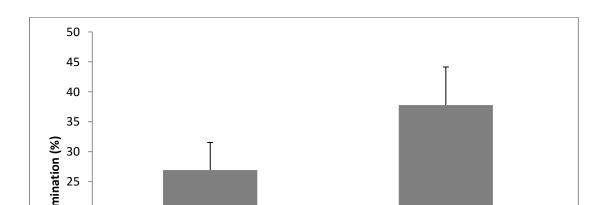


Figure 3.4. Effet du prétraitement des graines sur le pourcentage de germination. To graines semées directement, T1 graine immergées à l'eau tiède pendant 12h avant semis.

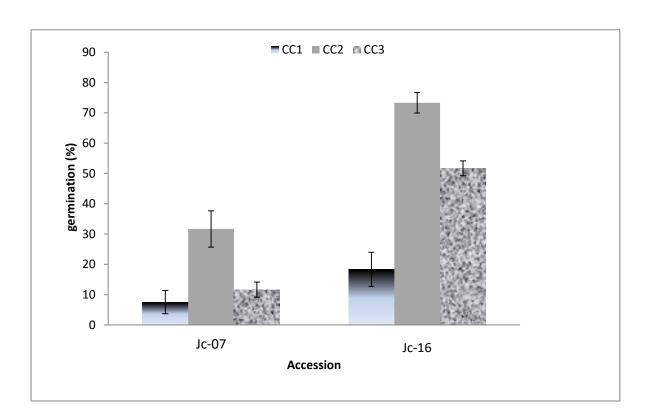


Figure 3.5. Effet du régime hydrique sur le pourcentage de germination. CC1 : 100% capacité au champ; CC2 50% capacité au champ et CC3 25% capacité au champ. TG : taux de germination. Jc-07 accession de la zone soudano-sahélienne, Jc-16 accession de la zone soudanienne. T0 graines semées directement, T1 graine immergées à l'eau tiède pendant 12 h avant semis.

3.4 Discussion

3.4.1. Variabilité dans le comportement germinatif de J. curcas

Nos résultats ont montré que la germination des graines de *J. curcas* est fonction de leur origine. Les graines de certaines accessions seraient plus aptes à germer que d'autres. Les pourcentages de germination obtenus sont variés. Si la capacité de germination de certaines accessions est supérieure à celle enregistrée par Samba et al. (2007) qui était de 86%, d'autres ont enregistré une capacité de germination très faible (moins de 30%). Cependant, les résultats obtenus sont comparables à ceux de Islam et al. (2007) qui ont enregistré des pourcentages de germination de J. curcas variant de 10 à 95% selon les génotypes. Dans le présent travail, les accessions de la Casamance ont présenté les meilleurs pourcentages de germination. Ceci laisse penser que la germination dépendrait probablement de la quantité et de la nature biochimique des réserves de la graine. En effet, les accessions de la Casamance avaient un poids 100 graines plus élevé comparées aux autres accessions certainement dû à la quantité de réserve accumulée dans la graine. Kaushik et al., (2003) ont aussi obtenu une meilleure germination avec les accessions de *J. curcas* ayant les poids de 100 graines les plus élevés. Les particularités climatiques et édaphiques de la Casamance pourraient favoriser un meilleur remplissage des graines de J. curcas. L'effet de la variabilité des conditions climatiques et du type de sol sur les traits des graines a été souligné par plusieurs auteurs (Ginwal et al., 2005 ; Kaushik et al., 2007). Par ailleurs, la nature biochimique des réserves accumulées peut être légèrement différente comparée à celle des accessions des autres sites de collecte. Cette différence au niveau biochimique peut se traduire par une différence de germination des graines. Un effet écotype significatif sur la germination de J. curcas a été rapporté par Sharma (2007). Vu que les accessions de la même zone et de poids quasi similaire n'ont pas eu le même niveau de germination, leur comportement germinatif pourrait avoir aussi un déterminisme génétique, certains génotypes seraient plus aptes à germer que d'autres. Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs (Ginwal et al., 2005; Islam et al., (2009) qui ont montré qu'il y avait un effet génotype significatif sur différents paramètres de germination de J. curcas.

3.4.2. Effet immersion des graines avant semis sur la germination de J. curcas

L'immersion des graines dans l'eau tiède avant semis a favorisé une germination rapide et a augmenté le pourcentage final de germination. Elle a probablement facilité l'imbibition de la graine et la rupture de la coque. Ainsi, elle a permis de lever l'inhibition tégumentaire exercée par la coque dure qui entoure la graine (Islam et al., 2009). Des résultats similaires ont été obtenus par Goda (1987) qui a montré que le trempage des graines de Acacia nilotica dans l'eau tiède pendant 72 h a amélioré le pourcentage de germination. Des résultats semblables ont été rapportés par Islam et al., (2009). Ces auteurs ont enregistré une meilleure germination des graines de J. curcas humidifiées sur du papier filtre dans des boites de pétri pendant 72 h avant semis. L'effet positif du trempage des graines dans l'eau de sept espèces d'Acacia sur le pourcentage de germination a été aussi rapporté par Magnani et al., (1993). L'eau est donc un élément essentiel qui permet l'imbibition de la graine qui déclenche le processus de germination. C'est pourquoi, il est utile d'examiner l'effet de la disponibilité de l'eau sur la germination de J. curcas promue pour être cultivée sur des terres marginales à faible pluviométrie.

Effet du régime hydrique sur la germination de J. curcas

Le régime hydrique a eu un effet significatif sur le pourcentage de germination. La plus faible germination a été notée sous CC1 (100% de la capacité au champ). Plusieurs études ont montré que la germination des graines est considérablement réduite en cas d'excès d'eau. En effet,

l'embryon utilise de l'oxygène dans les réactions d'oxydation et de biosynthèse précédant la germination. La faible solubilité de l'oxygène dans l'eau constitue le principal facteur limitant la germination des graines immergées (Chaussat and Deunff, 1975). Cependant, l'eau est un élément essentiel sans lequel la germination est impossible. Le faible pourcentage de germination observé en CC3 (25% de la capacité au champ) comparé à CC2 (50% de la capacité au champ) pourrait s'expliquer par une humidité du sol insuffisante pour une bonne germination. Pour germer, la graine a besoin au moins d'une certaine quantité d'humidité du sol afin d'amorcer les différentes réactions biochimiques conduisant à la germination. L'eau est un facteur déterminant de la germination, de la croissance et par conséquent, joue un rôle important dans la distribution des espèces végétales (Gutterman, 1993). Selon Matthew et al., (2008) le pourcentage de germination ainsi que le taux de germination baissent avec une réduction du potentiel hydrique du sol. L'inhibition de la germination sous potentiel hydrique bas serait un mécanisme important de survie qui assure la dormance de la graine de plusieurs cultures sur le sol jusqu'à une humidité suffisante pour une germination optimale et une installation des jeunes plants (Van der erg and Zeng, 2006).

L'effet des traitements (immersion des graines et régime hydrique) a été étudié sur des graines stockées durant 10 mois à la température ambiante (25°C). On peut alors supposer que la germination serait meilleure dans ces traitements avec des graines moins âgées. En effet, *J. curcas* perd son pouvoir germinatif durant le stockage. Certains auteurs (Avila *et al.*, 1949) recommandent d'utiliser uniquement des graines de la dernière récolte pour le semis du fait que la germination baisse rapidement avec le temps.

3.5 Conclusion

Au terme de cette étude on peut conclure que l'immersion des graines de *J. curcas* dans l'eau tiède pendant 12 h avant semis est préférable au semis direct car elle améliore la germination des graines. Sur un substrat de type Dior Deck (Sablo-argileux) une irrigation à 50% de la capacité au champ assure un meilleur pourcentage de germination. Les résultats obtenus ont montré que certaines accessions de *J. curcas* sont plus aptes à germer en particulier celles ayant un poids 100 graines plus élevé. Le poids des graines peut donc être un bon indicateur dans le choix des accessions lorsque l'implantation se fait par semis. Un test rapide de germination peut aider à conforter ce choix. Nous avons utilisé des graines de *J. curcas* âgées de 10 mois. On peut déduire que les graines de *J. curcas*, lorsqu'elles sont bien séchées, peuvent encore germer après 10 mois de stockage à la température ambiante (25°C).

Chapitre 4.

Analyse de la diversité génétique d'accessions locales de *Jatropha curcas* L. du Sénégal à l'aide de marqueurs microsatellites

Une partie de ce chapitre a fait l'objet de publications.

Article de revue

Ouattara B., Ndir K.N., Gueye C., Diédhiou I., Barnaud A., Fonceka D., Cisse N., Akpo E.L. and Diouf D. Microsatellite markers revealed a narrow genetic base of *Jatropha curcas* in Senegal. (Soumis dans la revue *Genetic Resources and Crop Evolution*)

Poster (annexe 5)

Bassiaka Ouattara, Ibrahima Diédhiou, Khadidiatou Ndoye Ndir, Diégane Diouf, Elie Léonard Akpo, Jean Didier Zongo: Diversité génétique et comportement germinatif de Jatropha curcas L. au Sénégal. Poster présenté à l'atélier de Biologie moléculaire et génétique végétale corganisé par l'IRD-Dakar et l'Ucad du 19 au 28 novembre 2012 à Dakar

Résumé

En Afrique de l'Ouest, d'énormes efforts sont faits pour promouvoir la production du biocarburant avec l'espoir de limiter la dépendance vis-à-vis des énergies fossiles et de réduire la pauvreté en milieu rural par une diversification des cultures. Dans ce contexte, J. curcas de la famille des Euphorbiacées, suscite beaucoup d'espoirs en raison de la haute valeur énergétique de son huile et du fait que sa culture soit peu exigeante en eau et en éléments nutritifs. Cependant, les rendements sont le plus souvent faibles et imprévisibles à cause d'un manque de matériel végétal agronomiquement performant et uniforme. L'exploration de la variabilité génétique locale peut aider à dégager les pistes d'amélioration et à mettre au point un programme de sélection conséquent. La diversité génétique de 103 accessions dont 82 accessions collectées dans différentes zones agro-écologiques du Sénégal a été évaluée à l'aide de 35 marqueurs microsatellites. Toutes les amorces utilisées ont amplifié l'ADN et ont donné des bandes dont les tailles correspondaient à celles attendues. Parmi les 35 microsatellites, seul JCT17 a été polymorphe avec 3 allèles. Les accessions du Sénégal ont montré un profil génétique identique. Parmi les 3 allèles révélés, 2 étaient spécifiques à deux accessions du Burkina Faso tandis que le dernier était identique aux restes des accessions, locales et exotiques. La faible diversité génétique de *J. curcas* semble être le résultat d'une introduction à partir d'un (ou de quelques clones) qui a été par la suite principalement multiplié par bouture. Ces résultats mettent en évidence la faible possibilité d'amélioration à partir du matériel végétal local et la nécessité d'élargir la base génétique de J. curcas au Sénégal par l'introduction de nouveaux matériels à partir du centre d'origine.

Mots clés : J. curcas, microsatellites, diversité génétique, Sénégal

Abstract

A significant effort has been undertaken in West Africa to increase biofuel production with the expectation to alleviate the dependency from fossil energies and to reduce rural poverty by diversifying cultivated crops. In this context, J. curcas L., a shrub belonging to Euphorbiaceae family, has gained great interest because of its oil convertible to biodiesel and its high ability to grow on marginal soils under semi-arid climatic conditions. Major constrain in the development of *J. curcas* as biodiesel crop is the lack of high yielding varieties for seed and oil content. Therefore, exploring local variability can help to identify genotypes that can be use in breeding program. Genetic diversity of 103 accessions including 82 accessions from different agro ecological zones of Senegal and 24 exotic accessions was assessed through 35 microsatellite markers. All the 35 microsatellite primers used gave amplifications at the expected band size. Only one microsatellite marker, JCT17, was polymorphic showing 3 alleles. It distinguished 2 accessions from Burkina Faso whereas all the remaining accessions showed the same allele. The exceptionally low level of variation for J. curcas might be relation that introduction was done from one or few origins and the material has not regained genetic diversity since that time due to vegetative propagation. The results highlighted the low possibility of improvement using local materials and the necessity to widen the genetic base of *J. curcas* in Senegal via new introductions from its centre of origin.

Key words: J. curcas, microsatellite, Genetic diversity, Senegal.

Introduction

Le choix de *J. curcas* pour produire du biodiesel au Sénégal est motivé par les avantages qu'on reconnait à la plante. C'est une espèce rustique présentant une forte plasticité écologique, pouvant croître et se développer en climat semi-aride sur de sols relativement pauvres (Yi et al., 2010). Elle peut donc, sans entrer en compétition avec l'agriculture vivrière, constituer un nouvel outil de développement comme nouvelle filière agricole. La plante était jadis plantée par les populations pour faire des haies vives et servir dans la pharmacopée (Divakara et al., 2009; Ouattara et al., 2013). J. curcas aurait été introduite au Sénégal probablement à partir de la Guinée Bissau où il a été introduit au cours du 19° siècle par des marins portugais (Heller, 1996). Aujourd'hui, il est largement diffusé dans différentes zones agro-écologiques du pays. L'engouement suscité par la filière biocarburant à base de J. curcas impose des programmes de sélection et d'amélioration car les rendements restent relativement faibles. Cependant, ces programmes sont limités par l'insuffisance de données scientifiques disponibles sur la plante et spécifiquement sur sa base génétique. Pourtant, c'est une information cruciale à apporter aux sélectionneurs afin de leur permettre de choisir et d'utiliser les meilleurs individus pour créer un nouveau matériel qui répond le mieux aux besoins du marché et aux conditions environnementales en perpétuelle évolution. Par ailleurs, la connaissance de la diversité génétique permet de mieux planifier sa gestion. Malgré l'usage multiple dont J. curcas fait l'objet et sa large distribution dans différentes zones agro-écologiques du Sénégal, à notre connaissance elle n'a fait l'objet que d'une caractérisation génétique à base de marqueurs RAPD ayant portée sur 120 individus appartenant à 6 accessions locales. La plupart des données sur J. curcas au Sénégal se limitent à quelques publications qui ont trait à des aspects agronomiques et physiologiques. On peut citer, entre autres, les travaux de Heller (1996) qui ont montré une différence significative dans le développement végétatif de 13 provenances de J. curcas dans des essais multilocaux au Sénégal et au Cap Vert et une forte interaction génotype-environnement au Sénégal. Leye et al. (2009) ont rapporté une spécificité de souche de champignon mycorhizien dans l'amélioration de la croissance de 7 provenances de J. curcas dont 3 locales. Ouattara et al. (2011; 2013) ont montré une variabilité dans le comportement germinatif et les traits des graines de J. curcas au Sénégal. Du fait d'une forte interaction génotype-environnement (Heller, 1996), le déterminisme génétique des variabilités observées dans les travaux ci-dessus mentionnés est hypothétique. Seul le génotypage à l'aide de marqueurs moléculaires neutres peut fournir des informations fiables sur la base génétique de la diversité phénotypique observée.

De telles données seraient une contribution importante aux programmes de sélection et à la conservation des ressources génétiques de *J. curcas*. Les microsatellites ou SSR (*Simple Sequence*, *Repeat*) se sont révélés efficaces comme outil d'analyse de la diversité génétique de plusieurs espèces en raison de leur caractère multi-allélique, leur reproductivité, leur codominance, leur héritabilité, leur abondance et leur large répartition dans le génome (Gupta et Varshney, 2000). En Inde, les SSR ont été utilisés pour caractériser la diversité génétique de *J. curcas* (Basha et al. 2009; Pamidimarri et *al.*, 2009).

Dans les deux chapitres précédents, nous avons montré qu'il existait une large gamme de variabilité morphométrique des graines et du comportement germinatif de *J. curcas*. Dans ce chapitre nous présentons les résultats de la caractérisation moléculaire qui avait pour objectif de vérifier si la variabilité observée au niveau morphologique et du comportement germinatif des graines était soutenue par une base génétique large. La caractérisation moléculaire de 82 accessions de *J. curcas* de différentes zones agro écologique du Sénégal a été entreprise à l'aide de 35 marqueurs SSR.

4.1 Matériel et méthodes

4.1.1 Collecte du matériel végétal

Des missions de prospection de populations de *J. curcas* à travers le territoire national, ont été effectuées entre les mois d'octobre et de décembre, en 2009 et 2010. Les informations relatives à l'âge des plantations visitées, le matériel végétal utilisé (graine ou bouture) pour mettre en place les plantations ont été relevées.

La collecte a porté sur des plantations locales âgées de plus de 5 ans afin d'éviter les nouvelles introductions du Mali et de l'Inde du programme national biocarburant (Ministère du développement rural et de l'agriculture, 2007). Les fruits mûrs de *J. curcas* ont été collectés sur 82 sites repartis dans 3 zones agro écologiques (à conditions édapho-climatiques contrastées) du Sénégal où l'espèce est la plus représentée. Environ 10 à 20 individus (200 à 500g de fruits par individu) distants d'environ 10 m ont été collectés par site. Dans ce travail, l'ensemble des fruits collectés sur le même site constitue une accession. Les fruits de chaque individu ont été enveloppés, étiquetés et gardés séparément. Les coordonnées géographiques des sites de collecte ont été enregistrées à l'aide d'un GPS (*Global Positionning System*).

Les fruits ont ensuite été séchés en serre dans des conditions similaires de température et d'humidité jusqu'à poids constant.

A ce matériel local, nous avons associé 21 accessions de la sous région Ouest africaine et du monde afin de comparer les profils génétiques et de voir si les accessions du Sénégal étaient génétiquement différentes (Tableau 4.1). Notre échantillon est constitué donc de 82 accessions du Sénégal et 21 accessions exotiques soient un total de 103 accessions.

Dix à douze individus par site ont été semées en pot au centre d'expérimentation du CERAAS (Photo 4.1).

Tableau 4.1. Origine des accessions de J. curcas utilisées

		Nombre
Continent	Pays	d'accessions
Afrique	Sénégal	82

Total		103
Amérique	Guatemala	1
Asie	Inde	1
	Cambodge	1
	Tanzanie	1
	Mozambique	1
	RD Congo	1
	Mali	1
	Benin	4
	Burkina Faso	10



Photo 4.1. Plantule de J. curcas en pots

4.1.2 Extraction et quantification de l'ADN

L'ADN de 820 individus locaux (10 par site) a été extrait suivant la méthode CTAB (Cethyltrimethyl ammonium bromide) avec quelques modifications (Benbouza *et al.*, 2005). Cent milligrammes de feuille fraiche ont été broyés dans un mortier avec du quartz. Le broyat a été homogénéisé dans 750 μl de tampon d'extraction (2% (p/v) CTAB, 20 mM EDTA, 4% (p/v) PVP, 2 M NaCl, 100 mM Tris-HCl pH 8,0 et 5% (v/v) de β-mercaptoethanol). Le tout a été incubé à 65°C pendant 1h. Durant l'incubation, les tubes étaient régulièrement inversés pour faciliter un bon mélange du broyat et du tampon. Après l'incubation, 750 μl de chloroforme isoamyl alcool (24:1 v/v) ont été ajoutés dans les tubes sous la hotte. Le tout a été mélangé par inversion des tubes pendant 5 mn et centrifugé pendant 20 mn à 13000tr/mn à 20°C. Le surnageant a été transféré délicatement dans de nouveaux tubes eppendorf (1,5 ml). L'ADN a été ensuite précipité à l'isopropanol froid (-20°C) de volume égal au ³/4 du volume du surnageant récupéré. Les tubes ont ensuite été inversés à plusieurs reprises pour faciliter le mélange avant d'être incubés pendant 1h à

– 20°C. Les tubes ont été centrifugés par la suite pendant 20 mn à 4°C et le surnageant éliminé. Le culot d'ADN a été lavé avec le tampon de lavage (76% éthanol et 10 mM d'ammonium acétate) par inversion des tubes pendant 30 mn. Ensuite, les tubes ont été centrifugés à 4°C pendant 20 mn. Le surnageant a été éliminé et le culot d'ADN séché à l'air libre à la température ambiante en laissant les tubes ouverts. Le culot a été repris dans 100 μl de TE (pH 8,0). La solution a été traitée avec l'ARNase A (100 μg/ml), et incuber à 37°C pendant 30 mn. L'ADN de 21 individus exotiques (1 individu par accession) issus de 3 continents ont été extraits suivant le même protocole (Tableau 4.1). Les extraits d'ADN obtenus ont été conservés au réfrigérateur toute la nuit. Le lendemain matin, la concentration de l'ADN a été déterminée par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8% en comparant l'intensité des bandes obtenues à celle de l'ADN standard SmartLadder (Eurogentec). L'ADN a été considéré comme étant de bonne qualité lorsqu'il y a absence ou peu de traînée fluorescente continue à la suite de la bande d'ADN révélée sous lumière ultraviolet après coloration au bromure d'éthydium (BET). Ensuite, l'ADN a été dilué dans du TE 1X à une concentration de 5 ng/μl pour servir à l'amplification PCR.

4.1.3 Amplification par PCR

Les couples d'amorces spécifiques à 35 séquences microsatellites de *J. curcas* ont été choisies en raison de leur polymorphisme révélé dans des travaux antérieurs (Tableau 4.2).

Dans une première étude, seules les 12 amorces développées par Pamidimarri *et al.* (2009) ont été utilisées pour caractériser 30 individus d'origines différentes (27 du Sénégal, 1 de la Mozambique, 1 de la Tanzanie et 1 de l'Inde). La Figure 4.1 illustre les sites de collecte des accessions locales utilisées dans cette première étude. Le volume réactionnel était de 25 µl et constitué de 25 ng d'ADN, de tampon PCR 1X (10 mM Tris pH 9,0, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂), de dNTPmix (200µM), d'amorce sens et anti-sens (0,1 µM chacun), de MgCl₂ (0,1 µM) et de Taq (1U). La PCR a été réalisée dans un Thermocyler MWG AG Biotech Primus 96.

Tableau 4.2. Caractéristiques des séquences microsatellites étudiées.

(En gras, les amorces utilisées dans la première caractérisation moléculaire. L'ensemble des amorces, hormis jcps1 et jcms30 exclus pour faible niveau de polymorphisme; ont été utilisées dans la deuxième caractérisation moléculaire)

Référence	Amorce	Motif répété	Taille attendue	Nombre d'allèles
	JcSSR-18	(TA)3(GT)18	(bp) 387-397	rapportés 3
	JcSSR-21	(C)7(A)5(CA)9	245-324	3
Basha et al. (2009)	JcSSR-26	(CA) ₁₈	193-234	4
	jcSSR-28	$(CA)_{17}$	Multilocus	3
	JcSSR1	$(AG)_{15}$	168-187	4
Zubieta et al.	JcSSR2	$(CT)_{13}$	123-138	4
(2009)	JcSSR3	$(GA)_{24}$	164-195	6
()	JcSSR4	$(AG)_{20}$	178-198	6
	JcSSR6	(TG) ₂₃	170-182	4
				3
Ambrosi et al.	JcSSR7	$(TG)_{18}$	148-202	4
(2010)	JcSSR8	(AC) ₁₇	154-182	5
	JcSSR10	(CT) ₁₆	178-184	
	jcds10	(TG)6CACGCA(TG)4	108-122	4
	jcds24	$(CA)_5(TA)_8(CA)_4$ $(TA)_3GA(TA)_4$	204-206	11
	jcds41	$(CA)_6(TA)_2$	102-114	5
	jcds58	(GT) ₄ (GA) ₅	104-112	3
	jcds66	(CT) ₂ (GT) ₃ ATTGCA(AT) ₄	216-228	3
Pamidimarri et al.	jcps1	(TG)4(GT)3(GT)4	132-162	2
(2009)	jcps6	$(AT)_3G(TA)_3(CT)_3(GT)_5CT(GT)_3$	288-305	4
	jcps9	(TG) ₁₂ (GA) ₂₂	140-165	4
	jcps20	(CA) ₂ (CA) ₄	224-260	9
	jcps21	(CA) ₇	189-200	3
	jcms21	$(GT)_5T(TG)_2$	15-88	3
	<u>jcms30</u>	$(GT)_5T(TG)_2$	135-144	2
	JCT15	(A) ₂₂ (CT) ₁₀		3
Phumichai et al.	JCT17	$(GA)_6(GA)_{11}(GT)_{21}$	_	4
(2011)	JCT27	(CT) ₁₇	_	3
	<i>y</i> =	(-)	_	
Na-ek et al. (2011)	JCT158	(CT) ₇	_	3
1 va-en et al. (2011)	JCT249	(TC) ₄ (TC) ₁₄	_	3
	JEMO13	(AGAGGC) ₄	208-230	4
	JEMO65	(AG) ₇	187-221	3
	JEMO99	(TA) ₅	100-150	3
Kumar et al. (2011)	JEM100	(TA) ₆	132-154	4
	JMDB04	(AT) ₇	104-128	3
	,	\ /'		

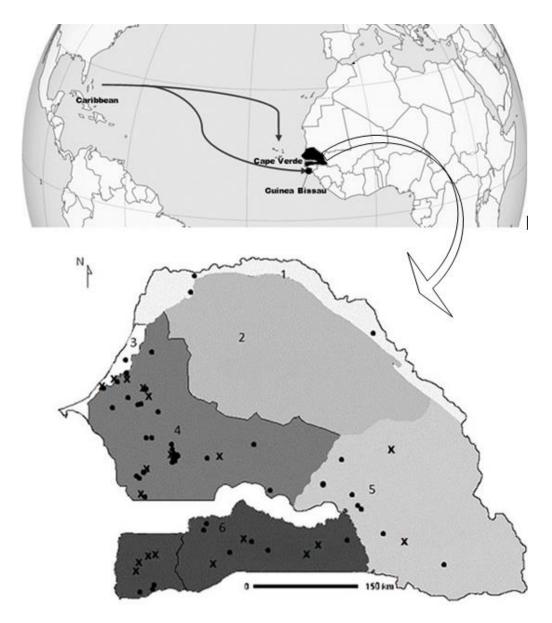


Figure 4.1. Carte de diffusion de *J. curcas* des caraïbes au Cap vert et en Guinée Bissau et sites de collecte de *J. curcas* dans différentes zones agro écologiques (représentées par les numéros 1 à 6) au Sénégal. Les croix et les points représentent les sites de collecte. Les croix indiquent les sites de collecte des accessions locales utilisées dans la prémière caractérisation moléculaire (l'ensemble des accessions ont été utilisées dans la seconde caractérisation moléculaire). 1, zone de la vallée; 2, zone sylvo pastorale; 3, zone des Niayes; 5, Est du Sénégal; 6, Casamance.

Dans une seconde étude, 33 amorces SSR du tableau 4.2 (jcps1 et jcms30 ont été exclus car jugés peu polymorphes) ont été utilisées pour caractériser 103 individus (incluant les 30 individus utilisés dans la première étude) d'origine différente (tableau 4.1). Dans cette seconde étude, nous avons voulu élargir notre échantillonnage et analyser plus de marqueurs SSR afin de mieux examiner la variabilité génétique de *J. curcas* au Sénégal. Dans cette étude, les amorces sens ont été rallongées à l'extrémité 5' par la queue M13 qui est une séquence de 19 paires de bases (Séquence M13 : 5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3'). Ainsi, la taille des marqueurs indiqués dans le tableau 4.2 est majorée de 19 pb. Les amorces choisies ont été synthétisées par le laboratoire SBS Genetech (Beijing, China). Le volume réactionnel était de 10 µl et constitué de 25 ng d'ADN, de

tampon PCR 1X (10 mM Tris pH 9,0, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂), de dNTPmix (200 μ M), d'amorce sens et anti-sens (0,1 μ M chacun), de MgCl₂ (0,1 μ M) de Taq (1U) et une amorce (spécifique à la queue M13) marquée au fluorochrome (l'IRdye 700 ou l'IRdye 800 de concentration 0,1 μ M). Du fait de la fluorescence de l'amorce marquée au fluorochrome, les amplicons sont détectés par le séquenceur à l'aide d'une caméra infrarouge.

Le programme PCR était le même dans les deux études et décrit précédemment par Foncéka *et al.* (2010) : une dénaturation initiale à 95°C pendant 1 mn suivie de 10 cycles (90°C pendant 30 s, la température d'hybridation (+5°C, -0.5°C/cycle) pour 1 mn et 72°C pendant 1 mn). Les dix premiers cycles ont été suivis de 25 cycles comprenant chacun 94°C durant 30 s, Tm (température d'hybridation) pendant 1 mn, 72°C pendant 1 mn. Enfin, une élongation finale réalisée pendant 8 mn à 72°C. La PCR a été réalisé dans un Thermocyler MWG AG Biotech Primus 96.

4.1.4 Séparation et visualisation des fragments d'ADN amplifiés

Séparation sur gel de polyacrylamide non dénaturant (6%) et coloration au bromure d'éthydium (BET)

Les produits PCR de la première étude ont été dilués une fois (3 µl amplifiat + 3 µl de bleu de bromophemol 1X) et sont faits migrer sur un gel de polyacrylamide (6%) pour une durée comprise entre 1 h 30 mn et 3 h selon la taille des bandes. La migration a été réalisée dans une cuve électrophorèse, Model 81-2325 class II (Galileo Bioscience). Après migration, le gel été coloré au BET (2.5%, v/v) pendant 45 mn et rincé à l'eau distillée pendant 10 mn. La visualisation a été faite sous lumière Ultra Violet (UV). Les photos des gels ont été prises à l'aide d'un appareil numérique.

Séparation sur gel de polyacrylamide dénaturant 6% et coloration au nitrate d'argent

Cette deuxième migration a été faite sur gel de polyacrylamide dénaturant qui présente une meilleure résolution (Photo 4.2). Elle a porté sur les mêmes produits PCR migrés sur gel de polyacrylamide non dénaturant. Cependant, pour la migration sur gel de polyacrylamide dénaturant, les produits PCR ont été dénaturés à 94°C pendant 4 mn dans un Thermocyler MWG AG Biotech Primus 96. Les migrations ont été effectuées dans une cuve électrophorèse model DASG-400-20 (CBS Scientific) pendant 1 h à 1 h 45 mn. Après migration, la coloration a été faite par un trempage du gel pendant 5 mn dans une solution Fix stop [10% (v/v) éthanol; 0,5% (v/v) d'acide acétique]. Ensuite, le gel a été coloré dans une solution de coloration [0,125% (p/v) de nitrate d'argent et 0,125% (v/v) de formaldéhyde] pendant environ 7 mn. Après coloration, un rinçage de quelques secondes à l'eau distillée est effectué. Le gel est ensuite placé dans une solution de développement [1,25% (p/v) de NaOH; 0,2% de formaldéhyde] jusqu'à l'apparition des bandes. Enfin, on a effectué un dernier passage du gel dans la solution fix-stop pour arrêter le processus de coloration. Le séchage du gel s'est fait à l'air ambiant pendant 1 h à 2 h, la lecture des bandes a été faite sous la lumière blanche et les gels ont été photographiés à l'aide d'une caméra.

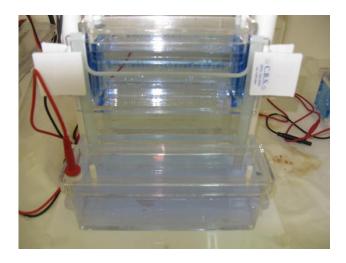


Photo 4.2. Migration sur gel de plolyacrylamide dénaturant dans un dispositif vertical.

Séparation et visualisation sur Séquenceur LICOR 4300 DNA Analyzer

Dans la seconde étude, les fragments d'ADN amplifiés ont été séparés sur un séquenceur LICOR 4300 (Plateau de génotypage du CERAAS). L'avantage du séquenceur LICOR est sa haute résolution et il permet la migration de 96 x 2 individus à la fois. On a fait migrer simultanément les produits PCR de deux amplifications dont une avec l'IRdye 700 et l'autre avec l'IRdye 800. Pour ce faire, 2 µl de produits PCR avec IRdye 700 (correspondant à un individu) ont été mélangés avec 2 µl de produits PCR de IRdye 800 (correspondant à l'ADN du même individu amplifié avec un marqueur différent) dans un puits d'une plaque de dépôt de 96 puits. Dans chacun des 96 puits contenant des mélanges de produits PCR IRdye 700 et IRdye 800 on a ajouté 12 µl de bleu-urée et 8 µl d'eau pure. Ensuite, la plaque de dépôt a été mise dans un thermocycleur MWG AG Biotech Primus 96 pour une dénaturation de l'ADN à 94°C pendant 3 mn. Après dénaturation, 2 ul de chaque puits ont été déposés dans de petits puits d'une plaque plate posée sur un bac à glace afin d'empêcher le renaturation des bandes d'ADN. Un marqueur de taille (1 µl) a été déposé aux deux extrémités de la plaque. Les pointes du peigne de dépôt ont été plongées dans les petits puits pendant 30 s pour permettre la montée du mélange par capillarité sur le peigne. Ensuite, le peigne est mis au dessus du gel de polyacrylamide 6,5% entre les deux plaques qui maintiennent le gel. Le peigne est retiré après une migration de 10 s et l'excès de bleu uréée au dessus du gel est nettoyé par un jet d'eau à l'aide d'une seringue. La migration est relancée jusqu'à l'apparition des bandes fluorescentes détectées à l'aide d'une caméra infrarouge et visualisées à l'aide du logiciel SAGA. Les images sont enregistrées automatiquement.

4.2 Résultats

4.2.1 Extraction de l'ADN

La méthode CTAB utilisée a permis d'avoir des extraits d'ADN en quantité et en qualité (Photo 4.3). En effet, nous avons pu avoir des concentrations d'ADN supérieures à 100 ng/µl pour un volume total de 100 µl (photo 4.3). Ces quantités étaient largement suffisantes pour les différentes réactions PCR. Les 35 loci microsatellites ont pu être amplifiés témoignant ainsi d'une bonne qualité de l'ADN obtenu.

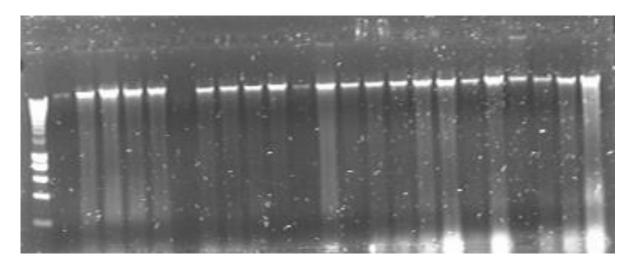


Photo 4.3. Migration de l'ADN sur gel d'agarose à 0,8%. Le premier puits à gauche est celui du smart Ladder.

4.2.2 Caractérisation moléculaire de 30 individus de J. curcas.

Les marqueurs SSR développés par Pamidimarri *et al.* (2009) ont été monomorphes sur 30 individus de *J. curcas* dont 27 étaient issus d'accessions locales. En effet; la migration des produits PCR sur le gel de polyacrylamide 6% n'a pas montré une différence entre la taille des bandes des différents individus (Photo 4.4). Des résultats similaires ont été obtenus sur le gel de polyacrylamide dénaturant 6%. Les séquences microsatellites utilisés n'ont donc pas permis de montrer des différences entre les individus de *J. curcas* appartenant à des sites de collecte distincts. Les tailles des allèles obtenus étaient similaires à celles obtenues par Pamidimarri *et al.* (2009).

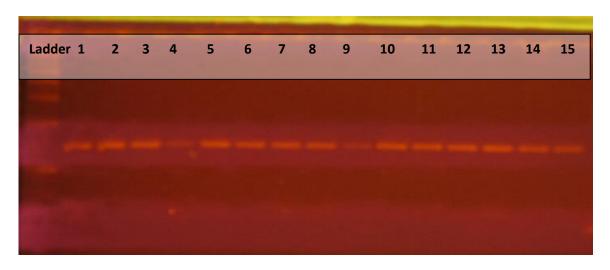


Photo 4.4. Migration sur gel de polyacrylamide 6% d'ADN amplifié avec l'amorce jcps9.

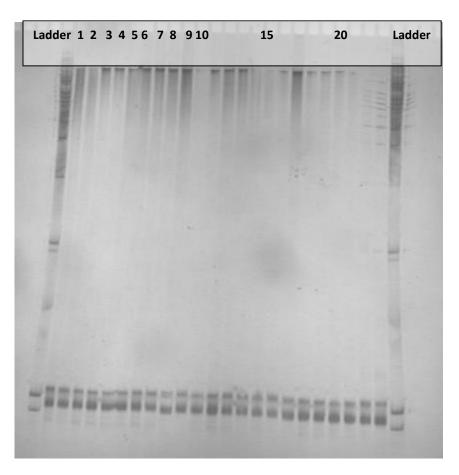


Photo 4.5. Migration sur gel de polyacrylamide dénaturant (6%) de l'ADN amplifié avec l'amorce jcds58.

4.2.3 Caractérisation moléculaire de 103 individus de J. curcas

Les 33 amorces utilisées (Tableau 4.2) ont amplifié l'ADN des 103 individus et produit des bandes correspondantes aux tailles attendues.

Tous les 82 individus issus de 82 sites du Sénégal ont été identiques aux loci caractérisés. En effet, tous les marqueurs testés étaient monomorphes sur les individus collectés dans différentes zones agro écologiques du Sénégal.

Les 21 individus issus d'accessions exotiques (Tableau 4.1) ont montré un profil génétique identique à celui des individus du Sénégal sur 32 des 33 loci étudiés. Seul le marqueur JCT17 (Tableau 4.2) était polymorphe pour les individus exotiques et a présenté 3 allèles (photo 4.6). Deux des 3 allèles ont été détectés chez 2 individus issus de 2 accessions différentes du Burkina, tandis que le troisième allèle était identique à celui observé dans les accessions sénégalaises. Les accessions de RD Congo, Mozambique, Tanzanie, Cambodge, Inde, Guatemala, malgré leur éloignement géographique, avaient un génotype identique aux accessions locales.

A tous les loci étudiés, nous avons observés des homozygotes.

Aucun groupement génétique correspondant à des localités géographiques n'a été observé.

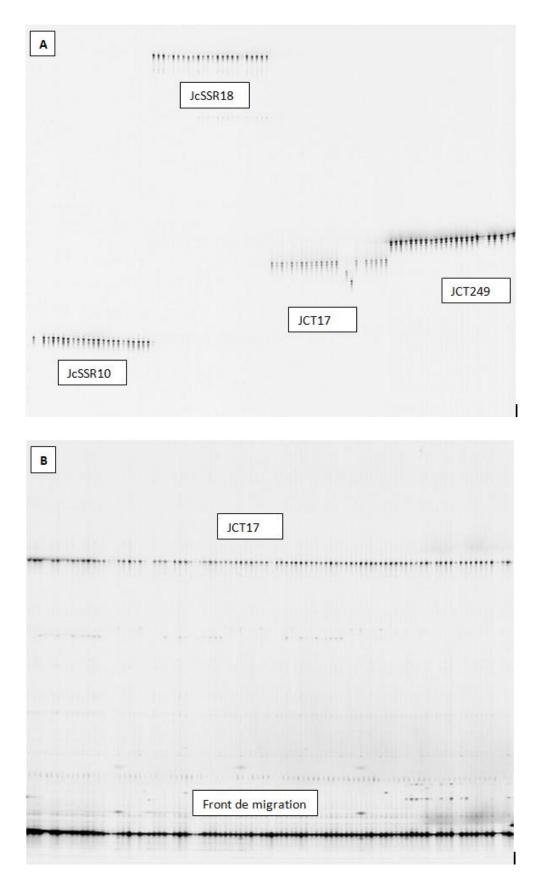


Photo 4.6. Migration sur séquenceur (gel polyacrylamide 6%). A, ADN de 24 individus amplifiés avec 4 amorces différents; B, ADN de 90 individus amplifiés avec l'amorce JCT17.

4.3 Discussion

4.3.1 Faible diversité génétique à l'échelle nationale et sous régionale

A l'échelle nationale, tous les SSR analysés ont révélé un seul allèle dans toutes les accessions. Ceci témoigne d'une base génétique très étroite de *J. curcas* au Sénégal. A l'échelle sous-régionale, seul le marqueur JCT17 a montré 3 allèles tandis que les 32 autres SSR étaient monomorphes. JCT17 est donc le seul SSR polymorphe obtenu dans notre étude. C'est aussi l'amorce qui a été le plus polymorphe (4 allèles) parmi 10 amorces dans les travaux de Na-ek *et al.*, (2009). Quatre autres amorces (JCT15, JCT27, JCT158, JCT249), polymorphes dans les études de Na-ek *et al.*, (2011) ont été monomorphes dans la présente étude.

La faible diversité de *J. curcas* au Sénégal se manifeste de deux manières : d'une part en ayant des marqueurs qui sont majoritairement monomorphes (34 marqueurs monomorphes sur 35 testés) ; d'autre part, pour le seul marqueur qui présente du polymorphisme (JCT17 avec 3 allèles, dont 2 sont exprimés une seule fois), les individus génotypés sont tous homozygotes. Ceci tend à montrer qu'en plus d'une multiplication clonale, on a aussi un système de reproduction fortement autogame ou un fort taux de consanguinité. L'autogamie chez *J. curcas* a été rapporté (Dhillon et *al.*, 2006). Nous résultats sont confortés par les informations recueillies auprès des populations qui ont montré que la plus part des haies vives sur lesquelles nous avons collecté les graines étaient issues de boutures à partir d'un pied mère lui-même issu de bouture venant d'un autre village. Cette échange de bouture entre parents et amis aurait favorisé la dispersion de l'espèce au Sénégal car la toxicité de *J. curcas* réduit la dispersion par les animaux et l'action du vent semble limité du fait de la taille et de la forme du fruit (forme ovoïdale, poids fruit supérieur à 1.5 g, (Heller, 1996)).

Une faible diversité génétique et l'absence de structuration de la diversité selon les origines géographiques corroborent la thèse selon laquelle *J. curcas* serait une espèce introduite au Sénégal. Selon Heller (1996), *J. curcas* a été introduite en Afrique et en Asie via le Cap Vert et la Guinée Bissau depuis les caraïbes par des marins Portugais. *J. curcas* au Sénégal proviendrait probablement de la Guinée Bissau, un pays limitrophe du Sénégal. La large distribution et la popularité de *J. curcas* dans la région de Zinguinchor, région frontalière avec la Guinée Bissau confortent cette hypothèse.

Une faible diversité génétique est également observée dans les autres zones d'introduction de *J. curcas*. Basha *et al.*, (2009) ont caractérisé 42 accessions de *J. curcas* de différentes régions géographiques de l'Inde à l'aide de 17 SSR. Ils n'ont pas trouvé de polymorphisme. Sur la base des 17 séquences microsatellites, ces auteurs ont rapportés que 72 accessions de *J. curcas* de différents pays du monde (incluant des pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique) avaient un profil génétique identique excepté les accessions du Mexique et de El Salvador. En Chine, Sun *et al.*, (2008) ont fait les mêmes observations. Ces auteurs ont travaillé sur 58 accessions chinoises et ont souligné une faible diversité génétique. Sur 7 marqueurs SSR utilisés dans leur étude, seulement 1 était polymorphe et a révélé deux allèles. La caractérisation moléculaire à l'aide de marqueur RAPD, AFLP de 38 accessions de *J. curcas* de 13 pays de 3 continents différents a montré une base génétique similaire à 75% (Popluechai et *al.*, 2009). La caractérisation moléculaire à l'aide de marqueurs AFLP de 5 accessions de *J. curcas* de trois continents distinct a montré que seulement 3 bandes étaient polymorphes sur un total de 575 (Yi *et al.*; 2010).

Tous ces résultats illustrent une faible diversité génétique de *J. curcas* cultivée dans le monde. Ces résultats supportent le fait que *J. curcas* cultivée à travers le monde dériverait d'un ou de quelques clones comme il a été rapporté dans le cas de l'hévéa (Carron *et al.*, 1989). Ces auteurs ont souligné

la faible diversité génétique de l'hévéa cultivé à travers le monde et ont conclu que les plantations d'hévéa ne dérivaient que de quelques clones.

Selon Godt et Hamrick (1996) la faible diversité génétique au sein d'une espèce est associée à un goulot d'étranglement durant sa propre histoire évolutive. L'introduction de *J. curcas* en Afrique et en Asie et probablement sa diffusion par bouture n'a pas permis une reprise de la diversité.

4.3.2 La faible diversité génétique contraste avec une forte variabilité morphologique

Le monomorphisme génétique observé contraste avec la variabilité phénotypique observée. Des différences significatives dans la croissance de 13 accessions de *J. curcas* dans des essais multilocaux au Sénégal et au Cap vert ont été rapportées (Heller, 1996). Dans une étude précédente (Ouattara et al., 2013), la variabilité morpho-métrique des graines de 19 accessions de *J. curcas* du Sénégal faisant parti des 82 accessions caractérisées dans le présent travail a été rapportée. Par exemple, le poids 100 graines a varié de 63,68 à 77,83 g. Une forte variabilité des traits des graines, de la croissance de *J. curcas* a été rapportée dans des travaux effectués en Inde (Ginwal et al., 2004; Kaushik et al., 2007). Le fait que dans ces travaux cités, aucune caractérisation moléculaire n'a été réalisée, le déterminisme génétique de cette variabilité phénotypique reste spéculatif. L'hypothèse d'une faible diversité génétique dans les échantillons de ces auteurs (Heller, 1996; Ginwal et al., 2004; Kaushik et al., 2007), au regard des résultats que nous avons obtenus et des résultats de caractérisation moléculaire réalisée en Inde que nous avons mentionnée précédemment, reste vraisemblable.

Une faible diversité génétique avec une large distribution dans différentes zone agro écologique suggère que *J. curcas* possède une large plasticité écologique comme cela a été souligné par Surwenshi *et al.*, (2011). La plasticité écologique est connue comme un trait qui favorise l'adaptation des espèces à une large gamme de conditions environnementales à travers des modifications morphologiques et physiologiques nécessaires à leur survie (Richards *et al.*, 2006).

La base moléculaire d'une forte variabilité phénotypique sur un fond génétique singulièrement identique pourrait être l'effet de facteurs épigénétiques qui régulent la transcription des gènes. Les modifications épigénétiques étant considérées comme des changements dans l'activité des gènes, héritables au cours de la mitose ou de la méiose, et qui ne peuvent être expliqués par des modifications de la séquence d'ADN; plus précisément, il s'agit des changements résultant de la méthylation de l'ADN ou de modifications des protéines constituant la chromatine (Morange, 2005). Blodner et al., (2007) ont révélé des mécanismes épi-génétiques pour de telle variabilité dans le cas de Arabidopsis. Chez J. curcas, la diversité observée avec la méthode AFLP sensible à la méthylation a été interprété en faveur de mécanismes épi-génétiques impliquant des méthylations différentielles de gènes de différentes accessions (Yi et al., 2010). Cette variabilité résulte souvent de l'action des facteurs environnementaux sur l'expression phénotypique d'un caractère (température, alimentation, caractéristiques physico-chimiques de l'environnement, etc.).

J. curcas pourrait être une plante modèle pour les recherches basées sur le mécanisme moléculaire à l'origine de forte variabilité phénotypique.

4.3.3 Voies et perspectives d'amélioration variétale

Au Sénégal, la volonté de produire du biodiesel à base de l'huile de J. curcas repose entre autre sur des génotypes hautement productifs et de forte teneur en huile. Les estimations du programme national biocarburant, soit 3 210 000 T de graines de J. curcas par an, repose sur un rendement moyen de 10 T/ha. Malheureusement, à notre connaissance aucun génotype présentant un rendement aussi élevé n'est disponible. Les rendements élevés rapportés sont le plus souvent des extrapolations à partir de la production d'un ou de quelques pieds de J. curcas (Openshaw, 2000). La sélection de génotypes à haute performance agronomique est donc une étape cruciale afin que la production de biodiesel à base de *I. curcas* soit une activité durable. Toutefois, le haut degré de similarité de J. curcas dans notre échantillonnage indique une faible potentialité d'amélioration intraspécifique par la sélection à partir des accessions locales. Face à cette situation, soulignée aussi dans des zones d'introduction de J. curcas, de nombreux auteurs suggèrent l'élargissement de la base génétique de J. curcas (Basha et Sujatha, 2009; Gressel et al., 2008, Sujatha et Prabakaran, 2003) par l'introduction de nouvelles accessions du centre d'origine (Amérique centrale). La transformation génétique de même que l'hybridation interspécifique sont aussi citées comme voies potentielles d'élargissement de la base génétique et d'amélioration. Des travaux concluant sur la transformation de J. curcas à l'aide de Agrobacterium (Li et al., 2008) et le croisement interspécifique, J. curcas et J. integerrima (Sujatha and Prabakaran, 2003) ont été rapportés.

4.4 Conclusion

Ce travail a révélé une base génétique très étroite de *J. curcas* au Sénégal. Les 35 séquences microsatellites analysées ont montré que les accessions locales utilisées étaient identiques. A l'échelle sous-régionale et internationale, seule l'amorce CT17 a montré que deux accessions du Burkina Faso étaient distinctes des autres accessions. La forte variabilité phénotypique révélée dans plusieurs études peut être interprétée comme de la plasticité écologique qui justifie la large diffusion de l'espèce. Les résultats obtenus sont en faveur d'une introduction de *J. curcas* au Sénégal à partir d'un ou de très peu de clones, qui par la suite, ont été multipliés par bouture principalement comme cela a été rapporté en Inde et en Chine. L'étroitesse de la base génétique réduit les possibilités d'amélioration de l'espèce sur la base du matériel végétal local d'où la nécessité d'élargir la base génétique de l'espèce au Sénégal *via* des introductions à partir du centre d'origine. Plusieurs recommandations d'amélioration sont en faveur de la combinaison de deux approches, la transformation génétique et le croisement interspécifique. La viabilité du programme biocarburant repose, en partie, sur ces améliorations avec l'espoir de trouver des génotypes à haute valeur agronomique.

Chapitre 5.

Evaluation du fonctionnement de *J. curcas* sous différentes conditions d'alimentation hydrique et de la demande atmosphérique

Une partie de ce chapitre a fait l'objet d'un poster et d'un article en préparation

Article de revue

Bassiaka Ouattara, Ibrahima Diédhiou, Nouhoun Belko, Ndiaga Cissé, Diégane Diouf and Elie Léonard Akpo. Water use and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedling under Sahelian climate in Senegal. (A soumettre à la revue *Journal of arid environment*).

Poster (annexe 6)

Bassiaka Ouattara, Ibrahima Diédhiou, Nouhoun Belko, Ndiaga Cissé, Diégane Diouf and Elie Léonard Akpo: Storage of water in stem improves growth performance and survival of Jatropha curcas in water scarce regions. Poster accepté pour être présenté au symposium intitulé « conference on desertification and land degradation » à Ghent en Belgique du 17 au 18 juillet 2013.

Résumé

Au cours des dernières années, J. curcas, un arbuste de la famille des Euphorbiacées, a gagné en popularité comme plante potentielle pour produire du biodiesel. La culture de J. curcas est promue en zone sahélienne où les contraintes hydriques sont récurrentes. Les espèces d'arbres qui peuplent le Sahel se distinguent par une meilleure gestion de l'eau dans le sol par une réduction de la perte d'eau par transpiration leur permettant ainsi de tolérer les périodes de sécheresse. J. curcas quoique réputée être tolérante à la sécheresse sa gestion de l'eau dans le sol est peu documentée. Ce travail a été entrepris afin de comprendre la gestion de la transpiration de J. curcas et l'impact potentiel du stress hydrique sur sa croissance. Des plants de *J. curcas* âgés de trois mois ont été soumis à un stress hydrique progressif et la transpiration foliaire de même que la croissance ont été évaluées. Six accessions originaires de trois zones agro écologiques du Sénégal ont été utilisées. Les plants ont été cultivés dans des pots remplis d'un sol de texture sablo-argileux et rangés dans un dispositif en blocs complets randomisés. Face au stress hydrique, les plants de J. curcas ont réduit leur transpiration foliaire et durant les périodes de stress hydrique sévère la surface foliaire a été réduite. Par conséquent, la production de biomasse des plants stressés a été inférieure à celle des témoins. Chez les plants stressés, l'eau accumulée dans les tiges a été réutilisée. Le seuil de la fraction d'eau transpirable du sol à partir duquel la transpiration foliaire a commencé à décliner était de 0,39 en moyenne. Contrairement à nos attentes, les accessions originaires des zones à faible pluviométrie n'ont pas montré de caractéristiques particulières de tolérance au stress hydrique comparées aux accessions des zones à forte pluviométrie. Si J. curcas peut tolérer le stress hydrique sa croissance au jeune âge est meilleure en conditions d'alimentation hydrique non limitative. Le stress hydrique prolongé pourrait rendre difficile la phase d'installation en milieu paysan.

Mots clés : *J. curcas*, transpiration foliaire, stress hydrique, Sénégal Abstract

During the last years, J. curcas L., a shrub native to South America, has gained much attention as biofuel crop. It is promoted in Sahelian zone where the major constraint to crop production is likely a low rainfall. Tree species in Sahelian area have better use of water contained in the soil due to the regulation of their transpiration. This characteristic in *J. curcas* is not known. To widen our knowledge on *J. curcas* transpiration and how it cope with water stress, *J. curcas* seedlings at 3 months old were submitted to progressive soil drying. Leaf transpiration and growth were investigated. Six accessions from three agro-ecological zones of Senegal were used. Seedlings were grown in pots filled with sandy-loam soil and arranged in a randomized complete blocks design. At moderate water stress J. curtas maintained its growth by producing new leaves. However, with increasing water stress, leaf transpiration declined. Afterwards, J. curcas plants reduced their leaf area by dropping some of their leaves and stopping new leaves production. Water stored in the stem played an important role in sustaining growth in drought plant stressed since low water content was recorded in their stems. The fraction of transpirable soil water threshold at which *J. curcas* leaf transpiration dropped was 0.39. At the end of the experiment, low total plant biomass was recorded in drought stressed plants compared to the controls. As unexpected, no distinguished pattern of drought tolerance was observed between accessions from Sahelian zone and those from wet zone. If J. curcas can tolerate water stress, in field, water stress can make the implantation of J. curcas difficult.

Key words: *Jatropha curcas* L., water stress, growth, leaf transpiration Introduction

L'intérêt manifesté pour la culture de J. curcas en zone sahélienne afin de produire du biodiesel repose en partie sur la rusticité qu'on reconnait à cette plante. Elle est présentée comme pouvant croître et se développer sur des terres marginales sans apport de nutriments (Achten et al., 2007). Elle est réputée être résistante à la sécheresse et est cultivée en zone tropicale semi-aride à travers le monde (Fairless, 2007; Achten et al., 2008). Cependant, les mécanismes physiologiques de résistance de J. curcas à la sécheresse notamment la gestion de sa transpiration, sont très peu documentés. Son aptitude à croître en zone sahélienne où la principale contrainte à la production est probablement l'eau, est peu connue. Par ailleurs, J. curcas est encore une plante qui n'a pas fait l'objet de domestication (Achten et al., 2008; Fairless, 2007). Les génotypes de J. curcas les plus adaptés aux conditions de déficit hydrique ne sont pas encore identifiés. Par ailleurs, il faut souligner que si l'introduction de *I. curcas* a été plus ou moins réussie dans les régions tropicales sèches avec une pluviométrie moyenne annuelle comprise entre 300 et 1000 mm (Heller, 1996), l'espèce n'est pour autant pas commune aux régions arides et semi-arides. En effet, Maes et al., (2009a) ont rapporté que 97% des spécimens qu'ils ont observés dans le monde sont issus de régions à pluviométrie annuelle supérieure à 944 mm et où les températures sont comprises entre 19,3-27,2 °C. Aucun spécimen n'a été rencontré dans les régions les zones arides. Par conséquent, les plantations dans les zones arides et semi-arides sont exposées au risque d'une faible productivité ou à l'exigence d'une irrigation de complément (Maes, 2009). L'aptitude de J. curcas à coloniser des zones agro écologiques à pluviométrie contrastée, comme c'est le cas au Sénégal, suggère différentes stratégies d'utilisation de l'eau par J. curcas selon les habitats tel que rapporté par Zhang et al. (2005) et Lei et al. (2006) sur des écotypes du genre Populus. Par conséquent, l'utilisation de l'eau par des accessions de *J. curcas* originaires de différentes zones agro écologiques, en particulier leur gestion de la perte d'eau par la transpiration, mérite une attention particulière. Ces informations peuvent aider dans le choix des génotypes les plus économiques et les plus efficients dans l'utilisation de l'eau pour la croissance et le développement de la plante. Ces données permettront probablement de motiver le choix des génotypes de J. curcas en fonction des zones de culture. L'eau étant probablement le facteur le plus important qui contrôle la croissance, la survie et la distribution des plantes (Kramer, 1983; Newton et Goodlin, 1989), le choix des écotypes de *J. curcas* pour établir des plantations en zone sahélienne doit se reposer sur une meilleure connaissance de leur aptitude à gérer l'eau mise à leur disposition. Afin de comprendre comment la transpiration foliaire de J. curcas est liée à la demande atmosphérique et à la teneur en eau du sol, et afin d'évaluer le comportement des plants de J. curcas face au déficit hydrique, les réponses de six écotypes de J. curcas ont été analysées dans un essai en conditions semi-contrôlées. Dans le chapitre précédent, sur la base de 35 marqueurs microsatellites utilisés, nous avons pu montrer que les accessions étaient quasi similaires du point de vue génétique. Le choix des six écotypes a été fait donc sur la base de leurs sites de collecte et des caractéristiques morpho-métriques des graines. Nous partons de l'hypothèse que les accessions de *I. curcas* des zones à faible pluviométrie présenteraient des caractères particuliers d'adaptation au stress hydrique comme cela a été souligné dans le cas de Populus davidiana (Zhang et al., 2005).

5.1 Matériel et méthodes

5.1.1 Matériel végétal et conditions de culture des plants

L'essai a été conduit à l'air libre entre mars et juin 2012 au Centre d'étude régional pour l'amélioration de l'adaptation à la sécheresse (CERAAS). Six accessions de *J. curcas* de la collection de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) dont 5 ont été précédemment décrites (Ouattara et al., 2013), ont été choisies pour l'étude. A défaut de disposer des informations préliminaires sur leur comportement en conditions de stress hydrique, le choix des accessions a été fait sur la base de la taille de leurs graines et de leurs origines géographiques. Les traits morphométriques, le poids des 100 graines ainsi que la pluviométrie de la localité d'origine sont indiquées dans le Tableau 5.1.

Le dispositif était une randomisation totale à un facteur (accession) à six modalités répétées 15 fois. L'unité expérimentale était un pot en plastique de 19,5 cm de hauteur, 21,1 cm de diamètre et de volume 5 L. Ces pots ont été troués par le bas et un tamis à maille fine a été placé au fond de chaque pot. Ils ont été remplis avec 8 kg de sol (sablo-argileux de type Dior Deck collecté au CNRA de Bambey) jusqu'à une hauteur de 16,5 cm et pesés pour obtenir le poids de chaque pot rempli de sol sec. Ensuite, les pots ont été arrosés jusqu'à saturation et laissés drainer jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de perte d'eau par gravitation. Les pots ont ensuite été pesés pour déterminer le poids de chaque pot à la capacité au champ. Pour chaque pot, la différence des poids après et avant arrosage correspondant à la quantité d'eau à la capacité au champ, a été calculée. La température et l'humidité relative au cours de l'expérimentation ont été enregistrées à l'aide d'un Thermo-hygromètre de type Hobo.

Tableau 5.1. Origines et caractéristiques des graines des six accessions de *J. curcas* (± erreur standard sur la moyenne)

	Code	Pluviométrie	Poids de 100	Longueur	Largeur	Epaisseur
Accession		(*)	graines (g)	(mm)	(mm)	(mm)
Ndawene	Jc-19	600-800	65,06 ± 1,64	$17,68 \pm 0,11$	10,86 ± 0,06	8,32 ± 0,07
Mako Foukola	Jc-08	900-1000	$72,76 \pm 0,75$	$18,63 \pm 0,03$	$11,02 \pm 0,01$	$8,46 \pm 0,02$
Barkeyel	Jc-03	600-800	$71,94 \pm 0,65$	$18,38 \pm 0,02$	$11,13 \pm 0,01$	$8,63 \pm 0,02$
Bantancountou	Jc-06	800-900	74,09 ± 0,80	$18,86 \pm 0,01$	$11,02 \pm 0,01$	$8,66 \pm 0,03$
Mampatim	Jc-16	900-1000	$77,83 \pm 0,20$	$19,02 \pm 0,04$	11,36 ± 0,01	8,91 ± 0,01
Latmingue	Jc-20	500-700	$58,89 \pm 0,48$	$17,87 \pm 0,05$	$11,09 \pm 0,03$	$8,55 \pm 0,01$

^{*} Salack et al., 2011

Cinq graines ont été semées par pot. Un démariage à un plant par pot a été effectué deux semaines après semis. Pendant la température moyenne de la journée et de la nuit étaient

respectivement de 30°C et 22°C et l'humidité relative moyenne était de 65%. Les pots ont été maintenus à 90% de la capacité au champ.

Cette phase de croissance avant application du stress hydrique correspond à la phase juvénile dans cette étude (3 mois de croissance). Lorsque les plants ont atteint environ le stade 14 feuilles en moyenne, les transpirations horaire et journalière ont été suivies.

5.1.2 Mesures et observations

5.1.2.1 Mesures de la transpiration

Les mesures de la transpiration foliaire ont débutée 3 mois après semis. Les plants avaient un développement similaire avec chacun 14 feuilles en moyenne. La veille du début des mesures, les pots ont été arrosés jusqu'à saturation et laissés drainer toute la nuit. Le lendemain, avant le lever du soleil, les pots ont été ensachés dans un sac en plastique transparent, enroulé et agrafé autour du collet pour minimiser les pertes d'eau par évaporation.

a, La transpiration foliaire horaire

La mesure de la transpiration foliaire horaire a porté sur 5 pots par accessions au cours d'une journée bien ensoleillée. Les pots choisis, ont été pesés régulièrement chaque heure de 7 h 30 mn à 18 h 30 mn à l'aide d'une balance de précision (OHAUS EB15, 15 Kg/0,5 g, USA). La transpiration horaire à été calculée en faisant la différence de poids entre deux pesées consécutives.

Les plants ont été récoltés le lendemain matin et les surfaces foliaires de chaque plant ont été déterminées. A cause de la différence des surfaces foliaires entre les plants, la transpiration mesurée a été ramenée en unité de surface foliaire et nous l'avons appelée taux de transpiration.

La masse sèche des plants (tiges, feuilles, racines) a été déterminée après séchage à l'étuve (80°C pendant 72 h) à l'aide d'une balance de précision (Pro AV2102, OHAUS, 4 Kg/0,05 g, USA). La surface spécifique des feuilles (SLA) a été calculée et correspond au ratio de la surface foliaire des feuilles sur leur poids sec. Le déficit de pression de vapeur ou *vapor pressure deficit* (VPD) a été calculé selon la formule de Tetens (1930).

b, La transpiration foliaire journalière

Elle a été déterminée sur 10 plants par accession (ayant quasiment la même taille et le même nombre de feuilles) dont 5 plants en condition d'irrigation optimale (90% CC) et 5 plants soumis à un stress hydrique progressif. Chez les plants stressés, toute perte d'eau par transpiration au delà de 100 g d'eau était compensée par un apport d'eau d'une quantité égale. Les mesures de la transpiration foliaire journalière ont été effectuées durant 3 semaines à compter du lendemain des mesures de la transpiration foliaire horaire. La biomasse récoltée après les mesures de transpiration foliaire horaire a montré que le système racinaire était suffisamment développé pour permettre aux plants d'explorer l'ensemble du volume des pots.

Les pesées ont été effectuées sur chacun des deux lots de plants (irrigués et stressés). Elles ont été effectuées chaque jour, le matin, entre 9 h et 10 h GMT. La transpiration journalière pour

chaque plant a été calculée en faisant la différence de poids entre deux pesées consécutives plus la quantité d'eau apportée à ce plant la veille lorsque la quantité d'eau transpirée la veille était supérieure à 100 g.

Chaque jour, à la fin des mesures, les plants irrigués recevaient une quantité équivalente à celle transpirée pour les maintenir à au moins 90% de la capacité au champ. Les pots soumis au stress hydrique recevaient la quantité d'eau transpirée diminuée de 100 g d'eau (stress progressif).

La valeur de la transpiration journalière obtenue a été normalisée pour faciliter les comparaisons entre plants. Une première normalisation de la transpiration journalière, appelée ratio de la transpiration (TR), a consisté à diviser la transpiration journalière de chaque plant stressé par la moyenne de la transpiration journalière des plants irrigués de même accession. Cette première normalisation a permis de minimiser les variations journalières de la transpiration dues à la différence des conditions climatiques entre les jours de mesure. Une seconde normalisation (NTR) a été effectuée en divisant le TR de chaque plant par la moyenne de TR des trois premiers jours de mesure de la même plante correspondant à une période où les plants n'étaient pas encore en condition de stress hydrique. Cette deuxième normalisation, appelé le taux de transpiration, avait pour but de minimiser les variations entre plants de la même accession,

5.1.2.2 Calcul de la quantité totale d'eau transpirable du sol ou total transpirable soil water (TTSW) et de la fraction transpirable du sol ou fraction transpirable soil water (FTSW)

La TTSW ou la quantité totale de l'eau que chaque plant soumis au stress hydrique pouvait transpirer lorsque les pots étaient à la capacité au champ a été déterminée. Elle correspondait pour chacun des plants soumis au stress hydrique, à la différence de poids du pot à la capacité au champ et le poids du pot lorsque le plant ne pouvait transpirer que moins de 10% de la quantité moyenne d'eau transpirée par les plants irrigués de la même accession. Les mesures ont été arrêtées lorsque les plants soumis au stress hydrique ne pouvaient transpirer que moins de 10% de la quantité moyenne d'eau perdue par transpiration par les plants irrigués de la même accession.

Le niveau de stress hydrique de chacun des pots, chaque jour, a été déterminé par le calcul de la fraction d'eau transpirable du sol (ou Fraction of Transpirable Soil Water, FTSW) comme recommandé par Sinclair (2005). La FTSW est un bon indicateur du niveau de stress hydrique (Ritchie, 1981). Elle correspond pour chacun des pots au ratio de la quantité d'eau disponible pour le plant par rapport à la quantité totale que le plant pouvait transpirer lorsque le pot était à la capacité au champ.

$$FTSW = (Pi-Pf)/TTSW$$

Pi, le poids du pot au jour i ; Pf, le poids du pot lorsque la transpiration des plants stressés est égale à 10% des plants irrigués ; TTSW, la quantité totale que le plant peut transpirer.

La valeur de la FTSW est comprise entre 0 et 1. Cependant, la FTSW des premiers jours de mesure pouvait excéder souvent 1 dans les cas où les plants étaient irrigués au delà de la capacité au champ.

5.1.2.3 Observations et mesures sur les plants

Les différentes observations et mesures après application du stress ont porté sur l'ensemble des pots soit au total 60 plants (5 plants irrigués et 5 plants stressés par accession).

La conductance stomatique a été mesurée sur trois jeunes feuilles bien déployées le premier jour de l'application du stress et le dernier jour de l'expérimentation. Les mesures ont été effectuées avec le poromètre decagon (WA 99163 USA) entre 12 h et 14 h.

La teneur relative en chlorophylle a été mesurée avec le SPADmètre (SPAD-502, Japan) sur trois jeunes feuilles déployées entre 10 h et 11 h le premier jour de l'application du stress.

Le nombre de nouvelles feuilles émises a été dénombré chez les plants soumis au stress hydrique ainsi que chez les plants irrigués à une fréquence hebdomadaire.

Le diamètre au collet des plants a été mesuré avec un pied à coulisse électronique. La hauteur a été mesurée du collet à l'extrémité de la tige avec une règle graduée. Ces mesures ont été faites au début de l'application du stress et en fin de l'expérimentation.

A la fin de l'expérimentation, les 60 plants ont été récoltés et les poids frais (tiges, feuilles) ont été déterminés immédiatement. Les poids secs (Tiges, feuilles, racines) ont été déterminés après séchage à l'étuve à 70 °C pendant 72 h.

Les surfaces foliaires des feuilles ont été déterminées à l'aide d'un scanneur (EPSON expression 10000XL, model J181A) équipé du logiciel WinRhizo pro V2008b.

Après séchage à l'étuve, la teneur en eau des tiges (Te_t) et la teneur en eau des feuilles (Te_f) à la récolte a été déterminée selon la formule suivante:

$$Te = 1-(Ps/Pf)$$

Ps, le poids sec ; Pf, le poids frais correspondant.

5.2 Analyse statistique

L'arrangement des données a été fait sur le tableur Excel Microsoft 2007. Pour déterminer l'effet des facteurs étudiés, nous avons utilisé l'analyse de la variance à l'aide du logiciel R. Lorsque

l'effet d'un facteur étudié était significatif, nous avons utilisé le test de Tukey (au seuil de 5%) pour la comparaison multiple. Le logiciel R nous a permis de faire une régression linéaire entre la surface foliaire et la masse des feuilles d'une part et la masse racinaire et aérienne d'autre part. Il nous a également permis d'ajuster une régression non linéaire entre le taux de transpiration et le temps horaire.

La procédure de régression du plateau a permis d'établir la relation entre la NTR et la FTSW et aussi de déterminer le seuil de FTSW à partir duquel la NTR a décliné comme décrit par Zaman-Allah (2011).

La procédure de régression du plateau permet d'ajuster deux régressions linéaires (y = 1 et y = ax + b) aux données de NTR et l'intersection des deux droites de régression constitue le seuil de FTSW à partir duquel le NTR a décliné.

La procédure permet de calculer l'intervalle de confiance ainsi que l'erreur standard de chacun des seuils déterminés.

5.2 Résultats

5.2.1 La transpiration foliaire en réponse au déficit de pression de vapeur (VPD) 3 mois après semis

La transpiration horaire (Tr) a varié au cours de la journée en relation avec les variations du VPD (Figure 5.1). Les valeurs de Tr étaient faibles en début de journée correspondant à de faibles valeurs de VPD et ont atteint leur maximum lorsque les valeurs de VPD étaient maximales entre 12 h 30 et 14 h 30 (GMT). Les Tr des différentes accessions étaient quasi similaires en début de journée et en fin de journée. Par contre, les valeurs de Tr des accessions ont été plus distinctes aux heures correspondant aux valeurs les plus élevées de VPD. La valeur la plus élevée de la Tr (76,4 mg h⁻¹ cm⁻²) a été enregistrée pour l'accession de Mako Foukola tandis que la plus faible a été notée avec l'accession de Bantancountou (48,65 mg h⁻¹ cm⁻²). Une tendance similaire a été observée avec la quantité d'eau transpirée par plant par jour (Figure 5.2). Cependant, l'analyse de la variance (au seuil de 5%) n'a montré aucune différence significative entre les Tr des différentes accessions même aux heures où les valeurs étaient les plus contrastées (13 h et 14 h).

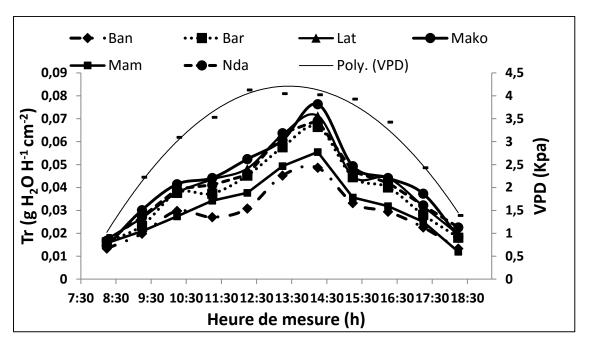


Figure 5.1. Transpiration horaire (Tr) et le déficit de pression de vapeur (VPD) au cours de la journée. Ban : accession de Bantancountou ; Bar: accession de Bantancountou ; Lat : accession de Latmingué ; Mako : accession de Mako Foukola ; Mam : accession de Mampatim ; Nda : accession de Ndawène ; Poly. (VPD) : la fonction polynomiale qui ajuste les données de VPD.

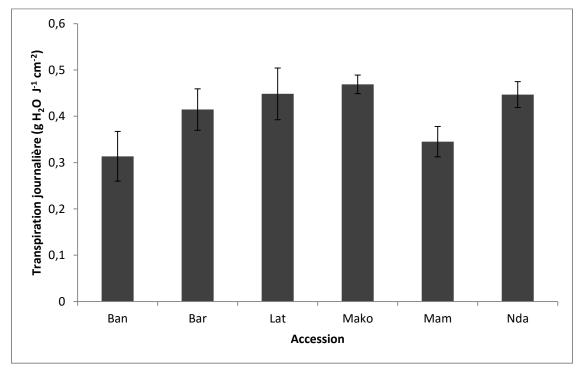


Figure 5.2. Transpiration journalière des plants irrigués de 6 accessions de *J. curcas* 3 mois après semis. Les barres d'erreurs représentent les écarts types. Ban : accession de Bantancountou ; Bar: accession de Barkeyel ; Lat : accession de Latmingué ; Mako : accession de Mako Foukola ; Mam : accession de Mampatim ; Nda : accession de Ndawène

5.2.2 Variables physiologiques et de croissance des plants durant la phase juvénile

Les différents paramètres physiologiques et de croissance mesurés avant application du stress hydrique sont représentés dans le Tableau 5.2. Aucune différence significative n'a été observée entre les accessions pour les variables mesurées excepté pour la conductance stomatique. La plus forte conductance a été notée avec l'accession de Mako Foukola et la plus faible avec l'accession de Mampatim. Un fort coefficient de variation a été observé pour la conductance stomatique (35,087) et pour le poids sec des feuilles (33,96) tandis que la surface spécifique des feuilles (*Specific leaf area*, SLA, en anglais) et la température foliaire ont peu varié.

Tableau 5.2. Variations des paramètres physiologiques et de croissance des plants de *J. curcas* en fonction des accessions 3 mois après semis en conditions d'alimentation hydrique non limitative.

	Accession					
Variable	Ban	Bar	Lat	Mako	Mam	Nda
Biomaero (g)	18,64 ± 1,28	$22,34 \pm 3,25$	25,97 ± 2,85	25,26 ± 4,20	24,79 ± 3,09	24,55 ± 1,24
Dcollet (mm)	$16,24 \pm 0,32$	$18,26 \pm 1,18$	19,89 ± 0,68	$19,18 \pm 1,68$	$18,55 \pm 0,88$	$18,82 \pm 0,44$
Gs (mmol m ⁻² S ⁻¹)	$533,87 \pm 61,65^{ab}$	$479,09 \pm 65,61$ ab	470,78 ± 93,61ab	$718,77 \pm 66,83^{a}$	$340,82 \pm 72,82^{b}$	585,29 ± 43,11ab
Surf.foliaire (cm ²)	512,01 ± 40,72	616,56 ± 104,12	712,30 ± 139,46	816,84 ± 129,73	638,10 ± 92,92	753,83 ± 58,90
Nbr.feuil	12,00 ± 0,54	$12,80 \pm 1,15$	$15,60 \pm 1,28$	14,20 ± 1,31	13,40 ± 1,36	14,40 ± 0,67
Hauteur (cm)	$23,20 \pm 0,33$	22,30 ± 1,07	$24,50 \pm 2,01$	$25,90 \pm 1,56$	23,80 ± 1,79	26,10 ± 1,00
Masse Rac. (g)	2,82 ± 0,20	3,30 ± 0,59	4,01 ± 0,30	$3,25 \pm 0,57$	$3,55 \pm 0,34$	$3,02 \pm 0,34$
SLA (cm ² g ⁻¹)	$110,65 \pm 2,84$	$104,03 \pm 0,47$	$108,50 \pm 2,77$	$112,30 \pm 1,52$	110,09 ± 1,97	$109,51 \pm 1,09$
Teneur Chlo	42,66 ± 0,70	$40,32 \pm 1,76$	$39,10 \pm 1,52$	42,20 ± 0,92	$38,34 \pm 2,17$	42,04 ± 1,15
Matière sèche tige (g)	11,15 ± 1,18	13,10 ± 1,91	$15,44 \pm 2,08$	14,78 ± 0,54	15,59 ± 2,23	14,67 ± 0,66

Les valeurs sont suivies de l'erreur standard. Biomaero : matière sèche arérienne ; Dcollet : diamètre au collet ; Gs : conductance stomatique ; SLA : surface spécifique des feuilles ; teneur Chlo : teneur en chlorophylle. Ban : accession de Bantancountou ; Bar: accession de Barkeyel ; Lat : accession de Latmingué ; Mako : accession de Mako Foukola ; Mam : accession de Mampatim ; Nda : accession de Ndawène

5.2.3 Taux de transpiration des plants de *J. curcas* soumis au stress hydrique progressif

Le taux de transpiration était proche de 1 aux valeurs de FTSW supérieur à 0,5. Lorsque les valeurs de FTSW se rapprochent de 0, il y a une forte réduction du taux de transpiration.

Les données du NTR s'ajustent bien à l'équation de Muchow et Sinclair (1991) comme illustré à la Figure 5.3.

Le seuil de FTSW à partir duquel la transpiration a décliné était différent selon les accessions (Tableau 5.3). La transpiration a décliné en premier pour l'accession de Latmingué à un FTSW égal à 0,44. La valeur du seuil de FTSW la plus faible (0,30) a été relevée pour l'accession de Ndawène. La réduction du taux de transpiration a débuté 8 jours après application du stress hydrique. A la fin de l'expérimentation, la conductance stomatique n'a pas pu être mesurée dû au stress sévère subit par les plants qui présentaient des feuilles très déshydratées.

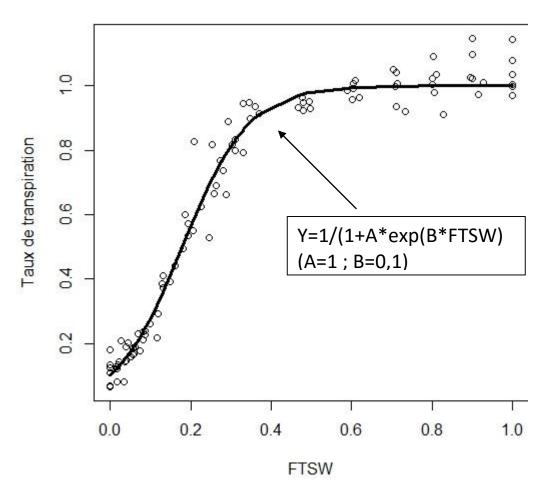


Figure 5.3. Evolution du taux de transpiration des plants de *J. curcas* en fonction de la FTSW (données de 6 accessions de Jatropha, 3 mois après semis).

Tableau 5.3. Les seuils de FTSW à partir desquels la transpiration a décliné pour les six accessions de *J. curcas*.

Accession	Seuil de FTSW	SE
Ban	0,3893	0,0276
Bar	0,3916	0,0166
Lat	0,4362	0,0134
Mak	0,3907	0,019
Mam	0,3753	0,0134
Nda	0,3021	0,0128

SE, erreur standard ; IC, intervalle de confiance. Ban : accession de Bantancountou ; Bar: accession de Barkeyel ; Lat : accession de Latmingué ; Mako : accession de Mako Foukola ; Mam : accession de Mampatim ; Nda : accession de Ndawène

5.2.4 Effet du stress hydrique sur la croissance des plants

Le stress hydrique a affecté de façon significative la croissance des plants de *J. curcas*. Ainsi, 21 jours (fin de l'expérimentation) après l'application du stress hydrique, les plants non stressés présentaient des valeurs moyennes de nombre de feuille par plante, de poids de matières sèches des feuilles par plante et de teneur en eau des tiges significativement plus élevées que celles des plantes stressés (Tableau 5.4).

Le facteur accession n'a pas eu d'effet significatif sur la teneur en eau des tiges et le nombre total de nouvelles feuilles émises par plante à la récolte.

Cependant, des différences significatives ont été observées entre les accessions pour le poids de matière sèche foliaire par plant, le poids de matière sèche des tiges par plant et le poids total de matière sèche par plant.

Ainsi, quelle que soit la fraction de biomasse considérée, l'accession de Latmingué a donné les valeurs les plus élevées : 6,53 g pour le poids de matières sèches des feuilles par plant, 18,64 g pour le poids de matières sèches des tiges par plant et 31,07 g pour le poids total de matières sèches par plant (tableau 5.5). L'accession de Bantancountou a obtenu les valeurs les plus faibles avec 3,95 g pour le poids de matières sèches des feuilles par plant, 12,17 g pour le poids de matières sèches des tiges par plant et 20,19 g pour le poids total de matières sèches par plant.

Tableau 5.4. Effet du stress hydrique sur la croissance et la teneur en eau des tiges des plants de *J. curcas*

Traitement	Nombre de feuilles par plant		Poids de matières sèches des feuilles par plant (g)	Teneur en eau de la tige par plant (%)	
	15 AIS	21 AIS	_		
Plants stressés	$1,83 \pm 0,14^{b}$	2,2 ± 0,15 ^b	$4,94 \pm 0,32^{b}$	$75,18 \pm 0,13^{b}$	
Plants irrigués	$2,27 \pm 0,14^{a}$	$3,4 \pm 0,18^{a}$	$6,09 \pm 0,38^{a}$	$76,19 \pm 0,18^a$	

Les valeurs sont suivies de l'erreur standard. AIS : après imposition du stress hydrique

Tableau 5.5. Production de biomasse des 6 accessions de *J. curcas* après 4 mois de croissance.

_	Matière	Matière sèche	
Accession	Feuilles	tiges	totale (g)
Ban	$3,95 \pm 0,44^{\text{b}}$	$12,17 \pm 1,42^{\text{b}}$	$20,19 \pm 2,31^{\mathrm{b}}$
Bar	$5,51 \pm 0,67^{ab}$	$15,16 \pm 1,16^{ab}$	$25,41 \pm 2,13^{ab}$
Lat	$6,53 \pm 0,43^{a}$	$18,64 \pm 1,18^{a}$	$31,07 \pm 1,83^{a}$
Mak	$5,14 \pm 0,67^{ab}$	$14,72 \pm 1,45^{ab}$	$24,13 \pm 2,51^{ab}$
Mam	$6,20 \pm 0,48$ ab	$18,41 \pm 1,6^{ab}$	$29,30 \pm 1,98^{ab}$
Nda	$5,76 \pm 0,81$ ab	$18,14 \pm 1,96^{ab}$	$28,93 \pm 3,27^{ab}$

Les valeurs sont suivies de l'erreur standard. Ban : accession de Bantancountou ; Bar: accession de Barkeyel ; Lat : accession de Latmingué ; Mako : accession de Mako Foukola ; Mam : accession de Mampatim ; Nda : accession de Ndawène

5.2.5 Corrélation entre les paramètres de croissance

Le test de corrélation de Pearson a montré une corrélation linéaire significative entre les paramètres de croissance (Tableau 5.6). Une corrélation linéaire positive a été enregistrée entre le poids de matières sèches des parties aériennes par plant et le poids de matières sèches des racines par plant d'une part et entre le poids de matières sèches totales par plant et le diamètre au collet d'autre part. Le coefficient de corrélation le plus élevé (0,99) a été noté entre la surface foliaire et le poids de matières sèches foliaires par plant. La relation entre la surface et la masse sèche foliaire est représentée par la figure 5.4 ; tandis que la Figure 5.5 représente la relation entre le poids de matières sèches aériennes et souterraines.

Tableau 5.6. Corrélation des paramètres de croissance. Les valeurs dans le tableau représentent les coefficients de corrélation de Pearson. Dcollet : diamètre au collet ; Biomaero : matière sèche aérienne ; ** significatif au seuil de 1%

	Dcollet	Surface Foliaire	Matière sèche	Matière sèche
		(cm ²)	foliaire (g)	racinaire
				(g)
Surf. Foliaire (cm ²)	0,6852**			
Matière sèche foliaire (g)	0,6794**	0,9862**		
Matière sèche racinaire	0,7255**	0,6495**	0,6674**	
(g)				
Biomaero (g)	0,8199**	0,7718**	0,7720**	0,8888**

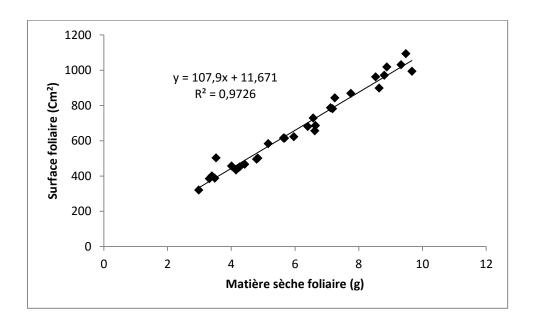


Figure 5.4. Relation entre la surface foliaire et la matière sèche foliaire

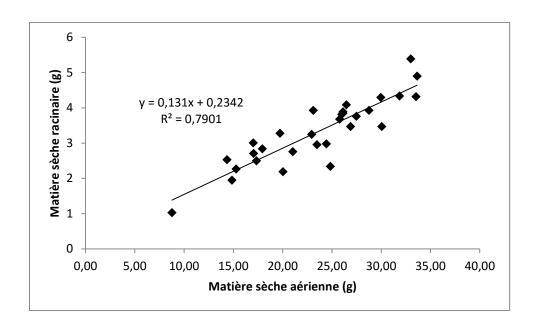


Figure 5.5. Relation entre les matières sèches racinaires et aériennes

5.3 Discussion

5.3.1 Effets du facteur accession sur le taux de transpiration foliaire en réponse au VPD

Le taux de transpiration foliaire suit l'évolution du VPD et est indépendant des accessions quelle que soit l'heure de la journée. Il y aurait donc un ajustement de la réponse stomatique des plants de *J. curcas* en fonction du VPD comme cela a été rapporté pour *Acacia tortilis* (Diagne et al., 2003). Cependant, l'ajustement stomatique en réponse au VPD n'est pas différent pour les accessions de *J. curcas* quel qu'en soit leur site de collecte. Par contre, il peut être différent suivant les zones agro écologiques dépendant du VPD qui prévaut dans ces zones. Ces résultats sont en adéquation avec ceux de Rao *et al.*, (2012) qui ont souligné une forte évapotranspiration de *J. curcas* durant les périodes de forte demande atmosphérique, en condition d'alimentation hydrique non limitative. Ceci peut être interpréter comme une augmentation du degré d'ouverture des stomates en réponse à l'élévation de la VPD comme il été rapporté pour *Eucalyptus globulus* (David *et al.*, 1997). En effet la transpiration est le principal moteur dans la circulation de la sève brute et se passe essentiellement au niveau des stomates. La régulation de leur ouverture influence donc directement la quantité d'eau transpirée par unité de surface.

5.3.1 Effets du facteur accession sur le taux de transpiration foliaire en conditions de stress hydrique

L'ajustement de la transpiration foliaire en fonction de la quantité d'eau dans le sol varie suivant les accessions de *J. curcas*. En effet, les seuils de FTSW à partir desquels la transpiration foliaire a décliné étaient fonction des accessions et non de leur site de collecte. La réduction de la transpiration foliaire n'est donc pas un caractère lié au site de collecte de *J. curcas*. Elle serait un caractère qui dépend de chaque accession en relation avec son patrimoine génétique. Ces résultats révèlent que *J. curcas* collectée dans une zone à faible pluviométrie n'utilise pas forcement moins d'eau pour sa croissance comparée à celle collectée dans une zone à forte pluviométrie. Toutefois, Zhang et al., (2005) ont montré que les écotypes de *Populus davidiana* collectés dans les zones arides ont tendance à économiser l'eau comparés à ceux des zones humides. Cette observation n'est pas vérifiée pour *J. curcas* et pourraient s'expliquer par le fait que les populations de *J. curcas* au Sénégal ne soient pas des populations naturelles, mais des plantations. *J. curcas* est rencontrée au Sénégal sous forme de haies vives ou de pieds isolés dans des cours ou des champs et serait plantée par la population (Ouattara et *al.*, 2013).

Les plants de *J. curcas* peuvent maintenir leur transpiration après plusieurs jours sans apport d'eau. Dans le présent travail, la transpiration foliaire ne commence à décliner qu'après 7 à 8 jours d'application du stress hydrique. Cette stratégie permet aux plants de *J. curcas* de maintenir leur croissance bien que le stock d'eau dans le sol diminue. Ceci offre un avantage aux plants de *J. curcas* dans des milieux à pluviométrie peu abondante. Une irrigation régulière d'environ 50% de la capacité au champ assurerait une bonne croissance des plants de *J. curcas*. Rao *et al.*, (2012) ont souligné que le rendement en graines de *J. curcas* était beaucoup plus affecté par la distribution de la pluviométrie que par la quantité totale d'eau reçue. Cependant, lorsque le stress hydrique est

sévère (FTSW = 0,39) on observe une baisse de la transpiration de *J. curcas*. Ces résultats expliquent le fait qu'en cas de stress hydrique prolongé la transpiration foliaire n'est pas corrélée à l'augmentation de la surface foliaire (Maes *et al.*, 2009).

L'ajustement de la transpiration foliaire en fonction de la FTSW est un caractère physiologique relevé chez de nombreuses espèces soumises au stress hydrique. En effet, le contrôle de la perte d'eau par la modification du flux transpiratoire est un mécanisme permettant à des espèces d'arbres de résister au stress hydrique (Rodriguez et al., 2004). La baisse de la transpiration est un mécanisme naturel de survie afin d'éviter la mort des plants en maintenant une quantité minimum d'eau dans les tissus des plants indispensable aux réactions métaboliques (Lacher; 2003). Montagu and Woo (1999) ont rapporté qu'il y a une baisse de la conductance stomatique des arbustes d'Acacia auriculiformis en cas de déficit hydrique. Cependant, les seuils de FTSW à partir desquels la transpiration décline sont fonction des caractéristiques des substrats utilisés dans les expérimentations si bien qu'il est difficile de comparer les espèces en se basant sur les données relevées dans la littérature.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus sur différentes espèces (Soltani *et al.*, 2000 ; Belko *et al.*, 2012 ; Ray et Sinclair, 1998) et corroborent bien la description générale de la transpiration foliaire en réponse au déficit hydrique du sol basé sur la fraction d'eau transpirable du sol (FTSW). L'équation de Muchow et Sinclair (1991) proposée pour décrire l'évolution de la transpiration foliaire en fonction de la FTSW ajuste bien les données obtenues (figure 5.3).

5.3.2 Comparaison des accessions dans leur stratégie d'utilisation de l'eau

Les seuils de FTSW à partir desquels la transpiration foliaire décline diffère selon l'accession et pourrait s'expliquer par une différence de sensibilité des stomates face au stress hydrique lié au patrimoine génétique de chaque accession. Selon la typologie de Sinclair et Muchow (2001) sur la stratégie d'utilisation de l'eau par les plantes, l'accession Latmingué aurait une « stratégie de conservation » de l'eau du fait que sa transpiration décline plus tôt à un FTSW relativement plus élevé (seuil FTSW = 0,44). Par contre, l'accession Ndawène aurait une « stratégie de production » puisqu'elle maintient une forte transpiration à des FTSW plus faibles (FTSW seuil = 0,30). Toutefois, Latmingué serait plus efficiente dans l'utilisation de l'eau car sa croissance a été la meilleure.

5.3.3 Effet du facteur accession sur la croissance des jeunes plants de *J. curcas* et leurs réponses face au stress hydrique

La croissance des différentes accessions a été similaire au cours des trois premiers. Sur la base des variables mesurées, il serait difficile d'identifier des accessions présentant une meilleure croissance après 1 à 3 mois. Les travaux de Maes *et al.*, (2009b) ont montré que des accessions de différentes origine géographique (Inde, Thai et Ethiopie), au jeune âge (3 mois), n'avaient pas de différences significatives dans leur taux de croissance. Cependant après 4 mois de croissance, nous avons enregistré des différences significatives entre les accessions contrairement à Diédhiou *et al.*, (2012) qui n'ont observé aucune différence significative sur les variables du développement de

Jatropha curcas, 22 mois après plantation au Sénégal. Nos résultats sont conformes à ceux de Ginwal et al., (2004) qui ont enregistré aussi des différences significatives dans la croissance de 10 accessions de J. curcas en Inde après six mois de culture. Par ailleurs, Mediavilla et Escudero (2004) ont également noté que les différences entre les plants adultes de chênes de deux espèces différentes étaient plus marquées que celles observées entre les jeunes plants.

La croissance des plants durant les 3 premiers mois de croissance, étaient faibles par rapport à celles observée par Maes et *al.*, (2009b) sous une atmosphère enrichie en CO₂ et où les plants étaient irrigués avec une solution nutritive. Cependant, les valeurs que nous avons enregistrées sont supérieures à celles obtenues par Ginwal *et al.*, (2005) après 6 mois de croissance en Inde dans des conditions climatiques (température, humidité) peu favorables. Ceci illustre la sensibilité de *J. curcas* aux conditions environnementales comme rapporté par Heller (1996).

La croissance des plants des différentes accessions de *J. curcas* a été affectée par le stress hydrique comme il a été rapporté pour différentes espèces (Bargali et Tewari, 2004; Otieno *et al.*, 2005; Maatallah *et al.*, 2010). La sensibilité des processus métaboliques au stress hydrique peut affecter diversement les différents paramètres de croissance. Cependant, la réduction de la croissance ne s'opère pas immédiatement dès l'arrêt de l'irrigation mais se poursuit encore quelques jours. En effet, en début de l'imposition du stress, les plants ont maintenu leur croissance par l'émission de nouvelles feuilles et une augmentation de la biomasse totale. Lorsque le stress se prolonge, l'eau stockée dans les tiges est utilisée par les plants (Maes *et al.*, 2009b). Ces résultats corroborent ceux de Maes *et al.*, (2009b) qui ont montré que durant deux semaines de stress hydrique, les plants de *J. curcas* gardaient leur croissance bien que le potentiel hydrique du sol ait décru.

Lorsque le déficit hydrique se prolonge, la physiologie de la plante est affectée et la production de biomasse est réduite. On a une réduction de la surface foliaire par une diminution du rythme d'émission foliaire et la chute des feuilles les plus âgées. Des observations similaires ont été faites par plusieurs auteurs (Newton et al., 1989; Zhang et al., 2005; Maes et al., 2009b) ont rapporté que des modifications morphologiques et physiologiques en cas de déficit hydrique permettent aux plantes de tolérer le stress hydrique.

La réduction de la croissance est le corollaire de plusieurs facteurs. Les échanges gazeux sont limités suite à la fermeture totale ou partielle des stomates pour raison de déficit hydrique. L'apport en éléments minéraux est réduit du fait d'une absorption limitée de l'eau du sol. Les résultats de cette réduction conduissent inéluctablement à une limitation du taux de croissance et par conséquent à la réduction de la croissance totale.

5.4 Conclusion

Nos résultats ont montré que le taux de transpiration est indépendant de l'origine des accessions de *J. curcas*. En conditions de stress hydrique, les accessions se distinguent par l'ajustement de leur transpiration indépendamment de leur site de collecte. La baisse de la transpiration foliaire par unité de surface, la réduction de la surface foliaire par la réduction du nombre (ou arrêt d'émission) de nouvelles feuilles émises et la mobilisation de l'eau contenue dans la tige sont identifiées dans la présente étude comme des stratégies d'adaptation de *J. curcas* au stress hydrique.

A cause de la forte demande atmosphérique caractéristique de la zone sahélienne, la culture à grande échelle de *J. curcas* dans cette zone aurait probablement un effet sur la dynamique de l'eau du sol. Par conséquent, la culture de *J. curcas* nécessite une stratégie politique claire aussi bien au Sénégal que dans d'autres pays de la sous région et cette culture devrait se limiter dans les zones impropres aux cultures vivrières.

Des études complémentaires portant sur des plantes adultes de *J. curcas* sont nécessaires pour nous édifier sur le fonctionnement hydrique de *J. curcas*.

Chapitre 6.

Conclusion générale et perspectives

I. curcas, jusqu'à une date très récente, était une plante sans intérêt particulier, voire négligée. Dans le document de Heller (1996) intitulé « physic nut : Jatropha curcas L.» on peut lire « Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops ». Ceci témoigne de son statut de plant négligée et sous-utilisée. Aujourd'hui, elle suscite beaucoup d'espoir à cause des nombreux avantages qu'on lui reconnait, en particulier son potentiel bioénergétique. Au Sénégal, la promotion de la culture de J. curcas répond à une volonté de l'Etat de diversifier ses sources d'énergie pour assurer sa sécurité énergétique et booster l'économie rurale. Toutefois, la culture de J. curcas est confrontée à de nombreux défis dont l'absence de matériel végétal à haute performance agronomique. Le présent travail a été entrepris dans le cadre du projet RIPIECSA Recherches Interdisciplinaires et Participatives sur les Interactions entre les Ecosystèmes, le Climat et les Sociétés en Afrique de l'ouest intitulé « Impacts potentiels de l'introduction de Jatropha curcas L. dans un contexte de variabilité et changement climatiques : impacts agricoles et environnementaux, intérêts économiques pour les ménages et communautés rurales ». Ce projet avait pour objectif global d'analyser la productivité de J. curcas, en relation avec ses caractéristiques génétiques, et évaluer ses impacts potentiels agricoles, environnementaux et économiques dans un contexte de variabilité et changement climatiques, au Sénégal et au Burkina Faso.

Dans ce travail nous avons exploré la variabilité à plusieurs échelles (agromorphologique, physiologique, génétique) des accessions locales de *J. curcas* afin d'évaluer les possibilités d'amélioration dont elle pourrait faire l'objet. Plusieurs missions de prospection et de collecte de *J. curcas* à travers tout le pays ont été effectuées. La collecte des fruits a concerné 82 sites (une accession par site) de différentes zones agro-écologiques où *J. curcas* est le plus représentée. La variabilité morpho-métrique des graines de 19 accessions censées représenter la majeure partie de la variabilité existante, au regard de la distribution géographique des accessions, a été déterminée. La capacité germinative des 19 accessions a été évaluée afin de vérifier des relations entre les traits des graines et leur germination. Une caractérisation moléculaire des 19 accessions élargie à 84 autres accessions dont 63 locales a été réalisée pour estimer le pool génétique de *J. curcas* au Sénégal. Enfin, la variabilité dans la croissance et la stratégie d'utilisation de l'eau a été analysée sous différentes conditions hydriques pour 6 accessions de *J. curcas* originaires de zones agro écologiques différentes et présentant des traits des graines différents.

A l'issue de ce travail et au regard des résultats obtenus, on peut tirer les conclusions suivantes :

6.1 Variabilité morpho-métrique des graines et zones de diffusion des anciennes plantations de *Jatropha curcas* L.

J. curcas est bien connue par les populations des régions du centre, de la zone des Niayes et particulièrement au Sud du Sénégal où elle est populaire. Elle est bien connue au Sénégal sous différentes dénominations telles que « Tabanani », « Kidi », « Touba Taba ». Cependant l'espèce est moins représentée au dessus de l'isohyète 400 m et non familière dans cette zone. Aucune ancienne plantation de J. curcas n'a été observée à l'extrême nord du Sénégal. Sur la base de la distribution des anciennes plantations de J. curcas au Sénégal, les zones comme la Casamance, le Sénégal oriental et le sud du Bassin arachidier sont des zones favorables à la culture de J. curcas. Considérant la culture traditionnelle de J. curcas dans ces zones et au regard de sa popularité manifeste, il sera plus facile d'implanter des plantations dans ces régions. Les traits des graines sont très variables selon

les accessions. Le poids 100 graines a varié entre 63,68 et 77,83 g dont une moyenne de 71,42 g. La longueur moyenne des graines est de 18,61 mm avec un minimum et un maximum de 17,89 et 19,15 mm respectivement. Le poids 100 graines a enregistré le coefficient de variation le plus élevé (5,12%). Une corrélation positive a été observée entre les traits des graines. Le poids 100 graines a été corrélé à la longueur des graines. La longueur des graines a été corrélée à la largeur et à l'épaisseur des graines. La tendance observée montre que les accessions de *J. curcas* des zones plus humides ont des graines de grande taille. Sur la base des résultats obtenus, le sud du Sénégal serait plus favorable à la culture de *J. curcas* et où elle produit des fruits et des graines de grande taille comparés aux fruits des autres zones à pluviométrie faible.

6.2 Comportement germinatif de *J. curcas*

La germination des graines de *J. curcas* débute 3 jours après semis et se poursuit au delà de 2 semaines. La capacité germinative des graines de *J. curcas* est fonction des accessions. Les meilleurs pourcentages de germination ont été observés dans les accessions dont les graines étaient de grande taille. Cependant, d'autres facteurs intrinsèques à la graine de *J. curcas* pourraient influencer la germination. En effet, certaines graines de grande taille on montré un faible pourcentage de germination. Ceci montre la nécessité de choisir des accessions présentant une meilleure germination lorsque l'implantation se fait par semis. Un test rapide de germination peut aider dans ce choix. Nous avons utilisé des graines de *J. curcas* âgées de 10 mois. On peut en déduire que les graines de *J. curcas* lorsqu'elles sont bien séchées peuvent germer après 10 mois de stockage à la température ambiante (25°C).

L'immersion des graines de *J. curcas* pendant 12 h dans l'eau tiède améliore significativement les paramètres de germination. L'état hydrique du sol a eu un effet significatif sur le pourcentage de germination. Sur un substrat de type Dior Deck (Sablo-argileux), le meilleur pourcentage de germination a été enregistré à 50% de la capacité au champ. L'immersion des graines dans l'eau tiède avant semis favorise une germination rapide et augmente le pourcentage final de germination. La meilleure germination a été observée à 50% capacité au champ avec des graines immergées dans l'eau tiède pendant 12 h avant semis. La faible germination observée dans les pots maintenus à la capacité au champ recommande que le semis des graines de *J. curcas* est à éviter durant les mois à forte pluviométrie.

.

6.3 Analyse de la Diversité génétique de *J. curcas* L. au Sénégal à l'aide de marqueurs microsatellites

La caractérisation moléculaire à l'aide de 35 marqueurs microsatellites a montré une base génétique étroite de *J. curcas* au Sénégal. Une faible diversité génétique de *J. curcas* et une absence de structuration de la diversité selon les origines géographiques ont été observées tout comme dans d'autres zones d'introduction en Asie. Ceci corrobore l'hypothèse d'une introduction à partir de la même origine ou des origines très peu distinctes et une multiplication végétative comme principal mode de propagation. *J. curcas* au Sénégal proviendrait probablement de la Guinée Bissau, un pays limitrophe du Sénégal. La large distribution et la popularité de *J. curcas* dans la région de

Zinguinchor, région frontalière avec la Guinée Bissau rend cette hypothèse plausible. Le monomorphisme génétique observé contraste avec la variabilité phénotypique. Ceci peut être interprété en faveur d'une plasticité écologique qui permet à l'espèce de coloniser différentes zones agro écologiques. Une des raisons possibles est le fait de facteurs épi-génétiques qui régulent la transcription des gènes. *J. curcas* pourrait être une plante modèle pour les recherches basées sur le mécanisme moléculaire à la base de la variabilité phénotypique de matériels génétiquement identiques.

6.4 Paramètres physiologiques et de croissance de *J. curcas* L. en conditions de déficit hydrique et de la variation de la demande atmosphérique

La transpiration par unité de surface foliaire de *J. curcas* est indépendante de l'origine des accessions de J. curcas et est positivement corrélée à la demande atmosphérique en condition d'alimentation hydrique non limitative. Cette corrélation laisse craindre que la culture à grande échelle de J. curcas au sahel, zone caractérisée par une forte demande atmosphérique, ait probablement un effet sur la dynamique de l'eau du sol. En conditions de stress hydrique prolongé, les accessions se distinguent par l'ajustement de leur transpiration indépendamment de leur zone de collecte. Le seuil de la fraction d'eau transpirable du sol à partir duquel la transpiration foliaire a commencé à décliner a varié de 0,30 à 0,44 avec une moyenne de 0,39. Les plants soumis au stress hydrique réduisent leur surface foliaire par la sénescence des feuilles les plus âgées et le ralentissement du rythme d'émission foliaire ce qui ralentit la croissance qui est assurée en partie par l'eau accumulée dans les tiges. Des différences significatives ($P \le 0.05$) ont été observées sur la croissance des plants en fonction des accessions seulement après 4 mois de culture. Contrairement à nos attentes, les accessions originaires des zones à pluviométrie limitée n'ont pas montré des caractéristiques particulières de tolérance au stress hydrique comparées aux accessions des zones à forte pluviométrie. Des études supplémentaires portant sur des plantes adultes de J. curcas sont nécessaires pour nous édifier sur la relation hydrique entre J. curcas et l'eau du sol.

6.5 Possibilités d'amélioration de *J. curcas* à travers le matériel local

Si la volonté de produire du biodiesel à base de l'huile de *J. curcas* repose, entre autres, sur des génotypes hautement productifs et de forte teneur en huile des efforts d'amélioration doivent être entrepris dans ce sens. Le coefficient de variation et le gain génétique du poids 100 graines ont été les plus élevés attestant ainsi les potentialités d'amélioration de ce caractère à travers la sélection. Les graines de grande taille ont présenté les meilleur taux de germination comme cela a été relevé dans des travaux antérieurs. Par ailleurs, plusieurs travaux ont souligné que le poids 100 graines était positivement corrélé à la teneur en huile des graines. Ainsi, dans les programmes de sélection, une attention particulière devrait être accordée aux accessions dont les graines sont de grande taille. Parmi les accessions, Mampatim, Dabo et Diaroumé présentent les meilleures caractéristiques sur ces aspects. La corrélation du poids 100 graines à d'autres traits des graines montre que les gènes qui gouvernent ces caractères sont probablement liés ou ont un effet pléiotropique ce qui doit être pris en compte par le sélectionneur. Au regard de leur croissance et de leur stratégie d'utilisation de l'eau, l'accession de Latmingué et de Mampatim présentent les meilleures performances. Le

sélectionneur doit aussi tenir compte des caractéristiques des pieds mères des accessions notamment leur niveau de production et la teneur en huile des graines.

La forte plasticité soulignée dans notre travail est un facteur important qu'il ne faudra pas perdre de vue dans les programmes de sélection.

Toutefois, le haut degré de similarité de *J. curcas* dans notre échantillonnage indique une faible potentialité d'amélioration intra-spécifique par la sélection à base du matériel local. Face à cette situation, l'élargissement de la base génétique de *J. curcas* au Sénégal, par l'introduction de nouvelles accessions à partir du centre d'origine, s'impose. La transformation génétique de même que l'hybridation interspécifique sont aussi des voies potentielles à explorer.

Recommandations

Au terme de notre étude, il convient de souligner quelques limites de ce travail qui devraient être prises en compte dans l'interprétation des résultats obtenus.

Etude morpho-métrique des graines

L'analyse statistique a montré des différences significatives des traits des graines selon les accessions. Cependant, sur les bases des données collectées, il est difficile de dire avec exactitude la source de cette variabilité. Les accessions ont été collectées dans des zones, à caractéristiques climatiques contrastées. La variabilité spatio temporaire de la pluviométrie dans la même zone climatique fait que l'effet positif de la forte pluviométrie sur la taille des graines doit être interprété avec pondération. Par ailleurs, le travail mené n'a pas pris en compte la part des caractéristiques édaphiques sur la variabilité morpho-métrique des graines. Pourtant, dans la même zone agroclimatique, il arrive que des parcelles présentent des caractéristiques édaphiques différentes. Le niveau de disponibilité des éléments nutritifs indispensable à la plante a aussi un effet sur son développement et sur le remplissage des graines d'où sur leurs traits morpho-métriques.

La germination

La germination des graines n'a pas concerné l'ensemble des accessions collectées. Ceci se justifie par le fait que les fruits n'ont pas été collectés à la même date. Il n'était donc pas pertinent de comparer la capacité germinative d'accessions collectées à des dates de récoltes différentes de plus de trois mois. Au regard du budget limité dont nous disposions, plusieurs essais de germination, qui auraient permis de lever cette contrainte, n'ont pas été possibles. Par ailleurs, les quantités de graines utilisées dans l'essai étaient limitées du fait de faibles quantités de graines disponibles. L'idéal serait d'utiliser au moins 100 graines par répétition soit un total de 300 graines par accession dans un dispositif à trois répétitions. Par ailleurs il était presque impossible de maintenir les pots avec exactitude au régime hydrique souhaité du fait de la variabilité journalière de l'état hydrique des pots à cause de l'évaporation de l'eau du sol.

Diversité génétique

Trente cinq séquences microsatellites ont été analysées. Ce nombre assez suffisant pour caractériser la diversité génétique intra-spécifique, dans la mesure où le polymporphiqme révélé par

ces marqueurs dans d'autres études est correct. Cependant, pour toutes ces séquences caractérisées, nous avons trouvé un profil génétique identique à l'ensemble des accessions étudiées. Si nous partons de l'hypothèse que la variabilité génétique est étroite et reste localisée qu'au niveau de quelques loci (gènes), l'utilisation d'un nombre plus élevé d'amorces aurait aidé à mieux comprendre la structuration génétique de *J. curcas* au Sénégal. L'utilisation d'autres outils de biologie moléculaire tel que l'AFLP sensible à la méthylation, le séquençage, fournirait de plus amples informations sur la structuration génétique du *J. curcas* au Sénégal.

Caractérisation physiologique

Les mesures des variables physiologiques et de croissance ont duré 3 semaines et ont porté sur des plants âgés de 3 mois. Par conséquent, l'évolution de ces variables durant les différentes phases phénologiques de la plante de *J. curcas* n'a pu être évaluée dans la présente étude. Par ailleurs, la sensibilité des variables mesurées à une déficience en éléments nutritifs indispensables à la plante est bien connue. Seule l'utilisation de milieu de culture où les concentrations des éléments nutritifs sont à des proportions répondant aux besoins de la plantes, permet de déterminer des valeurs absolues de ces paramètres. Les travaux ont été réalisés sur un mélange de sol et de terreau. Bien que nous ayons pris toutes les dispositions pour que les plants soient dans les meilleures conditions de développement, l'existence de facteurs défavorables à la croissance ne peut être exclue complètement. Aussi, nous avons considéré que l'évaporation était nulle dans les pots ensachés. Des pertes d'eau par évaporation, même infimes, restent possibles.

Perspectives

Au regard des limites ci-dessus relevées, des études complémentaires sont nécessaires afin de fournir des informations supplémentaires sur la diversité génétique de *J. curcas* au Sénégal et de mieux comprendre le déterminisme de la variabilité des paramètres étudiés dans le présent travail. Il conviendrait donc de :

- élargir l'étude de la variabilité morphométrique des graines sur des graines issues d'essais multilocaux où toutes les accessions de *J. curcas* seraient plantées et entretenues dans les mêmes conditions de culture. Ceci permettrait de minimiser les autres sources de variation et d'identifier les accessions présentant les meilleures mensurations des graines,
- Analyser la variabilité du comportement germinatif des graines de *J. curcas* en relation avec leur composition biochimique.
- Elargir le nombre d'amorces utilisées afin de caractériser un nombre élevé de loci des différentes accessions de *J. curcas*.
- Associer la méthode AFLP sensible à la méthylation et le séquençage dans les prochaines études de diversité génétique de *J. curcas*.
- Identifier le déterminisme moléculaire à la base de la forte variabilité agronomique et la variabilité de la teneur en huile des graines observées sur le terrain.

- Poursuivre la mesure des variables physiologiques et de croissance jusqu'à la floraison et à la maturité des fruits produits. Ainsi la corrélation entre les variables mesurées, le rendement en graines et la teneur en huile pourrait être évaluée.
- Mettre en place des essais multilocaux afin d'analyser l'effet de la variation climatique et édaphique sur les variables physiologiques et de croissance.

Références bibliographiques

- Achten, W.M.J., Verchot, L., Franken, Y.J., Mathijs, E., Singh, V.P., Aerts, R., Muys, B., 2008. Jatropha bio-diesel production and use. Biomass and Bioenergy 32, 1063–1084.
- AIE, 2002. International energy agency statistics, 2002.
- Allard, R.W., 1999. History of plant population genetics. Annual Review of Genetics 33, 1–27.
- Ambrosi, D.G., Galla, G., Purelli, M., Barbi, T., Fabbri, A., Lucretti, S., Sharbel, T.F., Barcaccia, G., 2010. DNA markers and FCSS analyses shed light on the genetic diversity and reproductive strategy of *Jatropha curcas* L. Diversity 2, 810–836.
- An, H., Wilhelm, W.E., Searcy, S.W., 2011. Biofuel and petroleum-based fuel supply chain research: a literature review. Biomass and Bioenergy 35, 3763–3774.
- Antonovics, J., 1971. The Effects of a Heterogeneous Environment on the Genetics of Natural Populations: The realization that environments differ has had a profound effect on our views of the origin and role of genetic variability in populations. American Scientist 59, 593–599.
- **Augustus, G., Jayabalan, M., Seiler, G.J., 2002**. Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. Biomass and Bioenergy 23, 161–164.
- Avila, J., 1949. Breves instru\ccoes para a cultura da purgueira. Colonia de Cabo Verde. Reparti\ccao Técnica dos Servi\ccos Agrícolas, Florestais e Pecuários. Imprensa Na\ccional de Cabo Verde, Praia.
- Baker, J.G., 1877. Flora of Maritises and seydselles. L. Recve & Co., London 322.
- Bargali, K., Tewari, A., 2004. Growth and water relation parameters in drought-stressed *Coriaria nepalensis* seedlings. Journal of Arid Environments 58, 505–512.
- Basha, S.D., Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., Sujatha, M., 2009. A comparative study of biochemical traits and molecular markers for assessment of genetic relationships between *Jatropha curcas* L. germplasm from different countries. Plant Science 176, 812–823.
- **Basha, S.D., Sujatha, M., 2009**. Genetic analysis of Jatropha species and interspecific hybrids of Jatropha curcas using nuclear and organelle specific markers. Euphytica 168, 197–214.
- Belko, N., Zaman-Allah, M., Cisse, N., Diop, N.N., Zombre, G., Ehlers, J.D., Vadez, V., 2012. Lower soil moisture threshold for transpiration decline under water deficit correlates with lower canopy conductance and higher transpiration efficiency in drought-tolerant cowpea. Functional Plant Biology 39, 306–322.
- **Benbouza, H., Baudoin, J.-P., Mergeai, G., 2006**. Amélioration de la méthode d'extraction d'ADN au CTAB appliquée aux feuilles de cotonnier. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 10, 73–76.
- **Berhaut, J., 1967**. Flore du Sénégal, 2ème édition plus complète avec les forêts humides de la Casamance. Clairafrique Dakar.

- **Berry, E.W., 1929.** An eogene tropical forest in the Peruvian desert. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 15, 345.
- Bertrand C., Franquet E., Fayolle S., Cazaubon A., 2003. Une nouvelle approche de la biodiversité: plasticité morphologique chez une diatomée d'eau douce. A new approach of the biodiversity: morphological plasticity for a freshwater diatom. Comptes Rendus Biologies 326, 107–120.
- **Bhattacharya, A., Datta, K., Datta, S.K., 2005.** Floral biology, floral resource constraints and pollination limitation in *Jatropha curcas* L. Pakistan Journal of Biological Sciences 8, 456–460.
- Blödner, C., Goebel, C., Feussner, I., Gatz, C., Polle, A., 2007. Warm and cold parental reproductive environments affect seed properties, fitness, and cold responsiveness in *Arabidopsis thaliana* progenies. Plant, cell & environment 30, 165–175.
- Bomfim-Gois, I.B., Silva, R., Boari, A.J., Santos-Oliveira, A., Fraga, A.C., 2006. Caracteriza\ccão isoenzimática de accesos de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), in: Proceedings of the 2nd Brazilian Congress of Mamona.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics 32, 314.
- **Bourou S., 2012**. Étude éco-physiologique du tamarinier (*Tamarindus indica* L.) en milieu tropical aride. Thèse de Doctorat (PhD), Université de Gend, Belgique , 193 p.
- **Burkill, I.H., 1966.** A dictionary of the economic products of the Malay Peninsula. A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula. 2.
- Burton, G.W., 1952. Quantitative inheritance in grasses. Proc. 6th Int. Grassland Congress 1, 77–283.
- Cai, Y., Sun, D., Wu, G., Peng, J., 2010. ISSR-based genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm in China. Biomass and Bioenergy 34, 1739–1750.
 - Campa C., 2009. Culture du *Jatropha curcas*: manne ou catastrophe. Disponible sur http://www.rfi.fr/sciencefr/articles/114/article-82102.asp (consulté le 11/05/2013)
- Carels, N., 2009. Jatropha curcas: a review. Advances in Botanical Research 50, 39–86.
- Carron, M.-P., Enjalric, F., Lardet, L., Deschamps, A., 1989. Rubber (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.), in: Trees II. Springer, pp. 222–245.
- Carvalho A. M., Moreira B. C., Silva M. C., Silva N. D., Kasuya, M. C., 2007. Fungos Micorri´zicos Arbusculares em Plantios de Pinha˜o Manso (*Jatropha curcas* L.). XXXI Congresso Brasileiro de Cieˆncia do Solo. Conquistas e Desafios da Cieˆncia do Solo Brasileira Gramado-RS.
- **Chaussat R., Deunff Le Y., 1975**. Rôle de l'eau, de l'oxygène et de la température dans la germination in La germiation des semences. Gauthier-villars, Paris, 232 p

- Cheng, C.H., Cheung, C.S., Chan, T.L., Lee, S.C., Yao, C.D., Tsang, K.S., 2008. Comparison of emissions of a direct injection diesel engine operating on biodiesel with emulsified and fumigated methanol. Fuel 87, 1870–1879.
- **CSE,** 1996. Centre de Suivi Ecologique. Disponible sur http://www.cse.sn/annuaire/ressnat/forestieres/cartezoneseco.htm (consulté le10/09/13)
- **Das, S., Misra, R.C., Mahapatra, A.K., Gantayat, B.P., Pattnaik, R.K., 2010**. Genetic variability, character association and path analysis in *Jatropha curcas*. World Applied Sciences Journal 8, 1304–1308.
- **David, T.S., Ferreira, M.I., David, J.S., Pereira, J.S., 1997.** Transpiration from a mature *Eucalyptus globulus* plantation in Portugal during a spring-summer period of progressively higher water deficit. Oecologia 110, 153–159.
- **Dehgan, B., Webster, G.L., 1979**. Morphology and infrageneric relationships of the genus Jatropha (Euphorbiaceae). Univ of California Press.
- Dhillon, R.S., Hooda, M.S., Handa, A.K., Ahlawat, K.S., Kumar, Y., Singh, N., 2006. Clonal propagation and reproductive biology in *Jatropha curcas* L. Indian Journal Agroforestry 8, 18–27.
- Dia, D., Sakho-Jimbira, M.S., Fall, C.S., Ndour, A., Dieye, P.N., 2010. Crise énergétique et recomposition de l'espace agricole au Sénégal: cultures traditionnelles vs biocarburants? Isra-Bame, rapport d'étude 52 p.
- **Diagne A. L., 2003**. Transpiration globale et fonctionnement hydrique unitaire chez *Acacia tortilis* en conditions de déficit pluviométrique. Science et changements planétaires / Sécheresse. 14, 235–240.
- Diédhiou, I., Diédhiou, P.M., Ndir, K., Bayala, R., Ouattara, B., Mbaye, B., Kâne, M., Dia, D., Wade, I., 2012. Diversity, Farming Systems, Growth and Productivity of Jatropha curcas L. in the Sudano-Sahelian Zone of Senegal, West Africa, in: Jatropha, Challenges for a New Energy Crop. Springer, pp. 281–295.
- **Diouf M., 1996.** Etude du fonctionnement hydrique et des réponses à l'aridité des ligneux sahéliens cas de *Acacia torstilis* (Forssk.) Hayne subsp. Raddiana (Savi) Brenan en zone soudano-sahélienne du Sénégal. Doctorat de 3ème cycle de Biologie végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD), Dakar.
- **Divakara, B.N., Upadhyaya, H.D., Wani, S.P., Gowda, C.L., 2010.** Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. Applied Energy 87, 732–742.
- **Domergue, M., Pirot, R., 2008**. *Jatropha curcas* L. Rapport de synthèse bibliographique. AGROgeneration, Montpellier 118 p.
- **Dronne Y., Forslund A., Guyomard H., 2011**. Les biocarburants de deuxième génération et la compétition pour l'usage des terres. OCL Oléagineux Corps Gras Lipides 18, 1–9.

- **El Amin Y. R., Luukkanen O., 2006.** Adaptive genetic variation in water-use efficiency and gum yield in Acacia Senegal provenances grown on clay soil in the Blue Nile region Sudan. Forest Ecology and Management 226, 219–229.
- **Evenari, M., 1957**. Les problèmes physiologiques de la germination. Bulletin de la Société Française de Physiologie Végétale 3, 105–121.
- Fairless, D., 2007. Biofuel: the little shrub that could-maybe. Nature 449, 652-655.
- **FAO, 2007.** Floods caused damage in most countries but increased rains in august improve crop prospects. Sahel Weather and Crop Situation Report N° 3.
- Foidl, N., Foidl, G., Sanchez, M., Mittelbach, M., Hackel, S., 1996. *Jatropha curcas* L. as a source for the production of biofuel in Nicaragua. Bioresource Technology 58, 77–82.
- **Foncéka D., 2010**. Foncéka D.; 2010. Elargissement de la base génétique de l'arachide cultivée (*Arachis hypogaea*): Applications pour la construction de populations, l'identification de QTL et l'amélioration de l'espèce cultivée. Thèse de doctorat, Montpellier SupAgrop, France, 162 p
- Ford E. B., 1940. Polymorphism and taxonomy In New Systematics. J. S. Huxley, Oxford, Clarendon Press.
- Freire F. C. O., Parente G. B., 2006. As doenc, as das Jatrofas (*Jatropha curcas* L. e J. podagrica Hook.) no estado do Ceara´. Comunicado Te´cnico Embrapa 120.
- Freitas, A.S., Barjona de, 1906. A Purgueira e o seu oleo. Dissertation. Instituto de Agronomia e Veterinaria, Lisboa.
- Ganesh-Ram S., Parthiban K. T., Senthil-Kumar R., Thiruvengadam V., Paramathma M., 2008. Genetic diversity among *Jatropha curcas* species as revealed by RAPD markers. Genetic Ressources and Crop Evolution 55, 803–809.
- **Gera, N., Gera, M., Purohit, M., 2000**. Source variation in seed and germination characteristics in *Acacia nilotica* Willd. Ex Del. Seed Research 28, 27–31.
- **Ginwal, H.S., Phartyal, S.S., Rawat, P.S., Srivastava, R.L., 2005.** Seed source variation in morphology, germination and seedling growth of *Jatropha curcas* Linn. in central India. Silvae Genetica 54, 76–79.
- **Ginwal, H.S., Rawat, P.S., Srivastava, R.L., 2004**. Seed source variation in growth performance and oil yield of *Jatropha curcas* Linn. in central India. Silvae Genetica 53, 186–191.
- **Goda S. E., 1987.** Germination of *Acacia nilotica* seeds. Sudan-Silva, iv +7 pp.; 4 ref. Khartoum, Sudan, University Press.
- Godt, M.J.W., Hamrick, J.L., 1996. Genetic diversity and morphological differentiation in *Liatris helleri* (Asteraceae), a threatened plant species. Biodiversity & Conservation 5, 461–471.
- **Goel, V.L., Behl, H.M., 2001.** Genetic selection and improvement of hard wood tree species for fuelwood production on sodic soil with particular reference to *Prosopis juliflora*. Biomass and Bioenergy 20, 9–15.

- **Gohil, R.H., Pandya, J.B., 2008.** Genetic diversity assessment in physic nut (*Jatropha curcas* L.). International Journal of Plant Production 2, 321–326.
- Gressel, J., 2008. Transgenics are imperative for biofuel crops. Plant Science 174, 246–263.
- **Grouzis, M., Akpo, L.E., 2006.** Interactions arbre-herbe au Sahel. Science et Changements Planétaires/Sécheresse 17, 318–325.
- Gueye, A., Mbengue, M.B., Diouf, A., Sanko, M.L., 1993. Tiques et hémoparasitoses du bétail au Sénégal. V. La zone nord-guinéenne. Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux 46, 551–561.
- **Gui, M.M., Lee, K.T., Bhatia, S., 2008**. Feasibility of edible oil vs. non-edible oil vs. waste edible oil as biodiesel feedstock. Energy 33, 1646–1653.
- **Gupta, P.K., Roy, J.K., Prasad, M., 2001**. Single nucleotide polymorphisms (SNPs): a new paradigm in molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. Current Science 80, 524–535.
- **Gupta, P.K., Varshney, R.K., 2000.** The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. Euphytica 113, 163–185.
- Gupta, P.K., Varshney, R.K., Sharma, P.C., Ramesh, B., 1999. Molecular markers and their applications in wheat breeding. Plant breeding 118, 369–390.
- Gutterman, Y., 1993. Seed germination in Desert Plants: adaptations of Desert Organisms. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
- Halilu, A.D., Misari, S.M., Echekwu, C.A., Alabi, O., Abubakar, I.U., Saleh, M.K., Adeyanju, A.O., Ogunwole, J., 2011. Survey and collection of *Jatropha curcas* L. in the northwestern Savannas of Nigeria. Biomass and Bioenergy 35, 4145–4148.
- Heller, J., 1992. Untersuchungen über genotypische Eigenschaften und Vermehrungs-und Anbauverfahren bei der Purgiernuß (*Jatropha curcas* L.). Hamburg: Kovac.
 - Heller, J., 1996. Physic Nut, *Jatropha curcas* L. Rome, Italy, International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI).
- **Henning, R.K., 1997**. Combating Desertification by integrated Utilization of the Jatropha curcas plant Experiences of the *Jatropha curcas* Project in Mali, West Africa. UNIDO. Weissensberg, Germany.
- **Holmes, P.M., Macdonald, I.A.W., Juritz, J., 1987**. Effects of clearing treatment on seed banks of the alien invasive shrubs *Acacia saligna* and *Acacia cyclops* in the southern and south-western Cape, South Africa. Journal of Applied Ecology 1045–1051.
- **Islam, A., Anuar, N., Yaakob, Z., 2009**. Effect of genotypes and pre-sowing treatments on seed germination behavior of Jatropha. Asian Journal of Plant Sciences 8, 433.
- **Janulis, P., 2004**. Reduction of energy consumption in biodiesel fuel life cycle. Renewable Energy 29, 861–871.

- **Jiménez, R.J., Martínez, M., 1994.** Redescripción de Jatropha andrieuxii Muell. Arg. (Euphorbiaceae), una especie endémica del Sur de México. Acta Botanica Mexicana 26, 27–32.
- **Jindal, S.K., Satyavir, Pancholy, A., 1999**. Variability and associations for seed yield, oil content and tree morphological traits in neem (*Azadirachta indica*). Journal of Tropical Forest Science 11, 320–332.
- **Johnson, H.W., Robinson, H.F., Comstock, R.E., 1955.** Estimates of genetic and environmental variability in soybeans. Agronomy Journal 47, 314–318.
- **Jones, N., Miller, J.H., 1992.** *Jatropha curcas*: a multipurpose species for problematic sites. ASTAG Technical paper Land resources 1, 1–12.
- Jongschaap, R.E.E., Corre, W.J., Bindraban, P.S., Brandenburg, W.A., 2007. Claims and facts on *Jatropha curcas* L. Plant Research International B.V., Wageningen, The Netherlands.
- **Katwal, R.P.S., Soni, P.L., 2003**. Biofuels: an opportunity for socio-economic development and cleaner environment. Indian Forester 129, 939–949.
- **Kaura, S.K., Gupta, S.K., Chowdhury, J.B., 1998**. Morphological and oil content variation in seeds of *Azadirachta indica* A. Juss.(Neem) from northern and western provenances of India. Plant Foods for Human Nutrition 52, 293–298.
- **Kaushik, N., 2001**. Effect of seed traits on the performance of top feed tree species at seedling stage. Forage Research 27, 43–5.
- **Kaushik, N., Kaushik, J.C., Kumar, S., 2003**. Response of Jatropha seedlings to seed size and growing medium. Journal of Non-Timber Forest Products 10, 40–42.
- Kaushik, N., Kumar, K., Kumar, S., Kaushik, Nutan, Roy, S., 2007. Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of Jatropha *curcas* L.) accessions. Biomass and Bioenergy 31, 497–502.
- **Kochhar, S., Singh, S.P., Kochhar, V.K., 2008.** Effect of auxins and associated biochemical changes during clonal propagation of the biofuel plant— *Jatropha curcas*. Biomass and Bioenergy 32, 1136–1143.
- Kramer, P.J., 1983. Water Relations of Plants. Academic Press, Inc., San Diego, CA.
- **Kumar, A., Sharma, S., 2008**. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. Industrial Crops and Products 28, 1–10.
- Kumar, H.Y., Ranjan, A., Asif, M., Mantri, S., Sawant, V., Rakesh, T.R., 2011. EST-derived SSR markers in *Jatropha curcas* L.: development, characterization, polymorphism, and transferability across the species/genera. Tree Genetics & Genomes 7, 207–219.
- Kumar, R., Nautiyal, S., Kumar, P., Bahuguna, A., 2004. Seed source variation in Khair (*Acacia catechu* Willd.). The Indian Forester 130, 530–536.
- **Lacher, W., 2003.** Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups., 4th ed. Springer, Germany.

- Langridge, P., Lagudah, E.S., Holton, T.A., Appels, R., Sharp, P.J., Chalmers, K.J., 2001. Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. Crop and Pasture Science 52, 1043–1077.
- **Le Houérou, H.N., 1997.** Climate, flora and fauna changes in the Sahara over the past 500 million years. Journal of Arid Environments 37, 619–647.
- **Lei, Y., Yin, C., Li, C., 2006.** Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. Physiologia Plantarum 127, 182–191.
- Leye, E.H.M., Ndiaye, M., Ndiaye, F., Diallo, B., Sarr, A.S., Diouf, M., Diop, T., 2009. Effet de la mycorhization sur la croissance et le développement de *Jatropha curcas* L. Revue des Energies Renouvelables 12, 269–278.
- Lin, C.-Y., Lin, H.-A., 2006. Diesel engine performance and emission characteristics of biodiesel produced by the peroxidation process. Fuel 85, 298–305.
- Maatallah, S., Ghanem, M.E., Albouchi, A., Bizid, E., Lutts, S., 2010. A greenhouse investigation of responses to different water stress regimes of *Laurus nobilis* trees from two climatic regions. Journal of Arid Environments 74, 327–337.
- Maes, Wouter H., Achten, W.M., Reubens, B., Raes, D., Samson, R., Muys, B., 2009. Plant–water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. Journal of Arid Environments 73, 877–884.
- Maes, W. H., Trabucco, A., Achten, W.M., Muys, B., 2009. Climatic growing conditions of *Jatropha curcas* L. Biomass and Bioenergy 33, 1481–1485.
- Magnani, G., Macchia, M., Serra, G., Moscheni, E., 1993. Practical methods for overcoming hardseedness in some ornamental Acacia species [Tuscany]. Colture Protette 22.
- **Makkar, H.P.S., Becker, K., Sporer, F., Wink, M., 1997**. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45, 3152–3157.
- Mark, D.B., Charles, E.S., James, L.S., Andrew, H.P., 2001. Transmission Genetics of Chromatin From a Synthetic Amphidiploid to Cultivated Peanut (*Arachis hypogaea* L.): Broadening the Gene Pool of a Monophyletic Polyploid Species. Genetics 159, 823–837.
- Mathur, R.S., Sharma, K., Rawat, M.M.S., 1984. Germination behaviour of various provenances of *Acacia nilotica* ssp. indica. The Indian Forester 110, 435–449.
- Matthew, I.D., Lora, M.C., James, W.D., Christopher, E.M., David, F.R., 2008. Germination Responses to Water Potential in Neotropical Pioneers Suggest Large-seeded Species Take More Risks. Annals of Botany 102, 945–951.
- **MDRA, 2007**. Ministère du développement rural et de l'agriculture, Programme spécial biocarburant ; juille 2007. Programme Spécial Biocarburant.

- **Mediavilla, S., Escudero, A., 2004**. Stomatal responses to drought of mature trees and seedlings of two co-occurring Mediterranean oaks. Forest Ecology and Management 187, 281–294.
- **Mishra, D.K., 2009**. Selection of candidate plus phenotypes of *Jatropha curcas* L. using method of paired comparisons. Biomass and Bioenergy 33, 542–545.
- **Mohapatra, S., Panda, P.K., 2010**. Genetic variability on growth, phenological and seed characteristics of *Jatropha curcas* L. Notulae Scientia Biologicae 2, 127–132.
- **Montagu, K.D., Woo, K.C., 1999**. Recovery of tree photosynthetic capacity from seasonal drought in the wet–dry tropics: the role of phyllode and canopy processes in *Acacia auriculiformis*. Functional Plant Biology 26, 135–145.
- **Morange, 2005**. L'épigénétique : un domaine de recherche aux multiples facettes / Epigenetics : a ultifaceted domaine. Medecine Sciences 21, 339.
- **Morgante, M., Olivieri, A.M., 1993**. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. The Plant Journal 3, 175–182.
- Muchow, R.C., Sinclair, T.R., 1991. Water deficit effects on maize yields modeled under current and "greenhouse" climates. Agronomy Journal 83, 1052–1059.
- **Muhammad, S., Amusa, N.A., 2003**. Effects of sulphuric acid and hot water treatments on seed germination of tamarind (*Tamarindus indica* L). African Journal of Biotechnology 2, 276–279.
- **Muller, C., Laroppe, E., 1993**. Conservation et germination des semences. Revue Forestière Fran\ccaise, 1993, 3, fascicule thématique" L'Alisier torminal et autres Sorbus."
- Na-ek, Y., Wongkaew, A., Phumichai, T., Kongsiri, N., Kaveeta, R., Phumichai, C., 2011. Genetic diversity of Physic nut (*Jatropha curcas* L.) revealed by SSR markers. Journal of Crop Science and Biotechnology 14, 105–110.
- Nahar, N.M., Waris, A., Azam, M.M., 2005. Prospects and potential of fatty acid methyl esters of some non-traditional seed oils for use as biodiesel in India. Biomass and Bioenergy 29, 293–302.
- Najimi, B., El Jaafari, S., Jlibène, M., Jacquemin, J.-M., 2003. Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 7, 17–35.
- Ndoye, N.K., Kane, M., Ouattara, B., Bayala, R., Diedhiou, I., 2013. Variability in seed traits, oil content and genetic diversity in local and exotic accessions of *Jatropha curcas* L. in Senegal. African Journal of Biotechnology 12, 5267–5277.
- Newton, R.J., Funkhouser, E.A., Fong, F., Tauer, C.G., 1991. Molecular and physiological genetics of drought tolerance in forest species. Forest Ecology and Management 43, 225–250.
- **Newton, R.J., Goodin, J.R., 1989**. Newton R. J. and Goodin J. R. 1989. Moisture stress adaptation in shrubs. In: McKell, C.M. (Ed.), The Biology and Utilization of Shrubs. San Diego, CA: Academic Press, Inc. pp. 365–383.

- **Nienstaedt, H., 1975**. Adaptive variation Manifestations in tree species and uses in forest management and tree improvement. Proc. 15th Can. Tree Improv. Assoc. Part 2, pp. 11–12.
- Oliveira, A.S., Silva-Mann, R., Santos, M.F., Gois, I.B., Carvalho, S.V., Boari, A.J., Fraga, A.C., Castro-Neto, P., 2006. Prospecção e caracterização de acessos de Jatropha curcas sp. Proceedings of the 2nd Brazilian Congress of Mamona (*Ricinus communis*) held at Sergipe, Brazil. EMBRAPA.
- **Openshaw, K., 2000**. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. Biomass and Bioenergy 19, 1–15.
- Otieno, D.O., Schmidt, M.W.T., Kinyamario, J.I., Tenhunen, J., 2005. Responses of *Acacia tortilis* and *Acacia xanthophloea* to seasonal changes in soil water availability in the savanna region of Kenya. Journal of Arid Environments 62, 377–400.
- Ouattara, B., Diédhiou, I., Ndir, K.N., Agbangba, E.C., Cissé, N., Diouf, D., Akpo, E.L., Zongo, J.D., 2013. Variation in seed traits and distribution of *Jatropha curcas* L. in Senegal. International Journal of Current Research 5, 17–21.
- Ouattara, B., Diedhiou, I., Ndir, K.N., Diouf, D., Akpo, L.E., 2011. Effect of water regimes and presowing treatments on seeds germination of different provenances of *Jatropha curcas* L. in Senegal. International Journal of Science and Advanced Technology 1, 151–156.
- Ovando-Medina, I., Espinosa-García, F.J., Núñez-Farfán, J.S., Salvador-Figueroa, M., 2011. State of the art of genetic diversity research in *Jatropha curcas*. Scientific Research and Essays 6, 1709–1719.
- **Pamidimarri, D.S., Sinha, R., Kothari, P., Reddy, M.P., 2009**. Isolation of novel microsatellites from *Jatropha curcas* L. and their cross-species amplification. Molecular Ecology Resources 9, 431–433.
- Phumichai, C., Phumichai, T., Kongsiri, N., Wongkaew, A., Sripichit, P., Kaveeta, R., 2011. Isolation of 55 microsatellite markers for *Jatropha curcas* and its closely related species. Biologia Plantarum 55, 387–390.
- **Ponnammal, N.R., Arjunan, M.C., Antony K. A., K.A., 1993**. Seedling growth and biomass production in *Hardwickia binnata* Roxb as effected by seed traits. Indian Forester 119, 59–62.
- Popluechai, S., Breviario, D., Mulpuri, S., Makkar, P.S., Raorane, M., Reddy, A.R., Palchetti, E., Gatehouse, M.R., Syers, J.K., Donnell, A.G., Kohli, A., 2009. Narrow genetic and apparent phenetic diversity in *Jatropha curcas*: initial success with generating low phorbol ester interspecific hybrids. Nature Precedings. hdl:10101/npre.2009.2782.1 (consulté le 13 Jan 2009).
- Qing, Y., Daiping, P., Zhubiao, D., ZhengLiang, W., QiXiang, S., 2007. Study on pollination biology of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). Journal of South China Agricultural University 28, 62–66.
- **Rafalski, J.A., 2002**. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. Plant Science 162, 329–333.
- **Raju, A.S., Ezradanam, V., 2002**. Pollination ecology and fruiting behaviour in a monoecious species *Jatropha curcas* L.(Euphorbiaceae). Current Science-Bangalore 83, 1395–1397.

- **Ramchandra, N.G., 1996**. Provenance variation in seed and seedling parameters in *Acacia catechu* Willd. PhD thesis, FRI Deemed University, DehraDun, India.
- Ranade, S.A., Srivastava, A.P., Rana, T.S., Srivastava, J., Tuli, R., 2008. Easy assessment of diversity in *Jatropha curcas* L. plants using two single-primer amplification reaction (SPAR) methods. Biomass and Bioenergy 32, 533–540.
- Rao, G.R., Korwar, G.R., Shanker, A.K., Ramakrishna, Y.S., 2008. Genetic associations, variability and diversity in seed characters, growth, reproductive phenology and yield in *Jatropha curcas* (L.) accessions. Trees 22, 697–709.
- Rao, K., Wani, S., Singh, P., Srinivas, K., Rao, S., 2012. Water requirement and use by *Jatropha curcas* in a semi-arid tropical location. Biomass and Bioenergy doi:10.1016/j.biombioe.2012.01.013.
- **Ray, J.D., Sinclair, T.R., 1997**. Stomatal closure of maize hybrids in response to drying soil. Crop Science 37, 803–807.
- **Rijssenbeek, W.H.R., 2007**. Jongschaap R, Lutzeyer HJ, Venturi P. Expert Meeting Jatropha, Brussels 07/12/07 Brussel.
- **Ritchie, J.T., 1981**. Water dynamics in the soil-plant-atmosphere system. Soil Water and Nitrogen in Mediterranean-Type Environments 81–96.
- Rodriguez, H.G., Silva, I.C., Meza, M.V., Lozano, R.G., 2004. Plant water relations of thornscrub shrub species, north-eastern Mexico. Journal of Arid Environments 58, 483–503.
- Saini, M.L., Jain, P., Singh, J.V., 2004. Genetic diversity in a germplasm collection of guar [Cyamopsis tetragonaloba (L.) Taub.]. Forage Research 30, 92–5.
- Salack, S., Muller, B., Gaye, A.T., 2011. Rain-based factors of high agricultural impacts over Senegal. Part I: integration of local to sub-regional trends and variability. Theoretical and Applied Climatology 106, 1–22.
- Salazar, R., Quesada, M., 1987. Provenance variation in *Guazuma ulmifolia* L. in Costa Rica. Commonwealth Forestry Review 66, 317–324.
- Samba, A., Diallo, B., Diop, M., Diatta, M., Sarr, A., Nguer, M., Diouf, M., 2007. *Jatropha curcas*: seed germination and propagation methods. in Expert Seminar on *Jatropha curcas* L. Agronomy and Genetics. Wageningen: Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA) Laboratoire National des Recherches sur les Productions Végétales (LNRPV). http://www.jatropha-alliance.org/fileadmin/documents/knowledgepool/SambaDiallo_Jatropha_Seed_Germination_a nd_Propagation.pdf (9/09/2013)
- Santoni, S., Faivre-Rampant, P., Prado, E., Prat, D., 2000. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. Cahiers Agricultures 9, 311–27.
- Sarr, B., Diagne, M., Dancette, C., 2005. ; 2005. Bilan de la recherche agricole et agroalimentaire au Sénégal. Dakar, Sénégal, pp 33–50.

- Saturnino, H.M., Pacheco, D.D., Kakida, J., Tominaga, N., Gonc, alves, N.P., 2005. Cultura do pinha o-manso (*Jatropha curcas* L.). Informe Agropecua 26, 44–78.
- **Sembène, M., 2000.** Variabilité de l'Espaceur Interne Transcrit (ITSI) de l'ADN ribosomique et polymorphisme des locus microsatellites chez la bruche *Caryedon serratus* (Olivier): différenciation en races d'hôtes et infestation de l'arachide au Sénégal. Thèse de doctorat d'état es sciences, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal, 227 p.
- Serra, M.C.P., 1950. O valor da purgueira na economia de Cabo Verde. Rev. Ultramar 3, 9–16.
- **Shah, S., Sharma, A., Gupta, M.N., 2004**. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by enzyme assisted three phase partitioning. Industrial Crops and Products 20, 275–279.
- **Sharma, N., 2007**. Effect on Germination on Raised bed and Sunken bed Nursery in different Provenances of *Jatropha curcas* L. in Expert Seminar on *Jatropha curcas* L. Agronomy and Genetics. Wageningen.
- **Sharma, Y.C., Singh, B., 2008**. Development of biodiesel from karanja, a tree found in rural India. Fuel 87, 1740–1742.
- Shen, J.L., Ni, H.Q., Chen, X.Y., Huang, S.W., 2010. Genetic diversity of *Jatropha curcas* with SRAP molecular markers. Journal of Zhejiang Forestry College 27, 347–353.
- SIE, 2007. Système d'information énergétique du Sénégal. Rapport, 56 p.
- **Sinclair, T.R., 2005**. Theoretical analysis of soil and plant traits influencing daily plant water flux on drying soils. Agronomy Journal 97, 1148–1152.
- **Sinclair, T.R., Muchow, R.C., 2001**. System analysis of plant traits to increase grain yield on limited water supplies. Agronomy Journal 93, 263–270.
- Singh, R.N., Vyas, D.K., Srivastava, N.S.L., Narra, M., 2008. SPRERI experience on holistic approach to utilize all parts of *Jatropha curcas* fruit for energy. Renewable Energy 33, 1868–1873.
- **Soares, S., De Lima, R., Leao, B., De Macedo, B.N., 2007**. Root system characteristics of *Jatropha curcas* plants propagated through five methods. in Expert Seminar on *Jatropha curcas* L. Agronomy and genetics. Wageningen, the Netherland: Fact Fundation.
- Soltani, A., Khooie, F.R., Ghassemi-Golezani, K., Moghaddam, M., 2000. Thresholds for chickpea leaf expansion and transpiration response to soil water deficit. Field Crops Research 68, 205–210.
- **Srivastava, R., 1999**. Study in variation in morpho-physiological parameters with reference to oil yield and quality in *Jatropha curcas* Linn. Ph. D. thesis, Forest Research Institute(Deemed University), Dehradun, India.
- Sudheer-Pamidiamarri, D.V.N., Pandya, N., Reddy, M.P., Radhakrishnan, T., 2009. Comparative study of interspecific genetic divergence and phylogenic analysis of genus Jatropha by RAPD and AFLP. Molecular Biology Reports 36, 901–907.

- Sujatha, M., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2005. Shoot bud proliferation from axillary nodes and leaf sections of non-toxic *Jatropha curcas* L. Plant Growth Regulation 47, 83–90.
- **Sujatha, M., Prabakaran, A.J., 2003**. New ornamental Jatropha hybrids through interspecific hybridization. Genetic Resources and Crop Evolution 50, 75–82.
- Sun, Q.-B., Li, L.-F., Li, Y., Wu, G.-J., Ge, X.-J., 2008. SSR and AFLP Markers Reveal Low Genetic Diversity in the Biofuel Plant in China. Crop Science 48, 1865–1871.
- Sunil, N., Varaprasad, K.S., Sivaraj, N., Suresh Kumar, T., Abraham, B., Prasad, R.B.N., 2008. Assessing *Jatropha curcas* L. germplasm in-situ—A case study. Biomass and Bioenergy 32, 198–202.
- Surwenshi, A., Kumar, V., Shanwad, V.K., Jalageri, B.R., 2011. Critical review of diversity in *Jatropha curcas* for crop improvement: A candidate biodiesel crop. Research Journal Agricultural Sciences 2, 193–198.
- Tatikonda, L., Wani, S.P., Kannan, S., Beerelli, N., Sreedevi, T.K., Hoisington, D.A., Devi, P., Varshney, R.K., 2009. AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L., a biofuel plant. Plant Science 176, 505–513.
- **Tetens, O., 1930**. Uber einige meteorologische Begriffe. Journal of Geophysics / Zeitschrift für Geophysik. 6, 297–309.
- **Tiwari, A.K., Kumar, A., Raheman, H., 2007**.: Biodiesel production from Jatropha (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: an optimized process. Biomass and Bioenergy 31, 569–575.
- **Traoré, S., 1994**. Les modèles migratoires soninké et poular de la vallée du fleuve Sénégal. Revue Européenne de Migrations Internationales 10, 61–81.
- **USEPA, 2002.** A comprehensive analysis of biodiesel impacts on exhaust emissions. EPA420-P-02-001.http://www.biodiesel.org/resources/reportsdatabase/ reports/gen/20021001_gen-323.pdf (04/01/2013)
- Van den Berg, L., Zeng, Y.J., 2006. Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. South African Journal of Botany 72, 284–286.
- **Veronique, J.B., Chornick, T., James, K.D., 2002**. Comparison of methods to measure the oil contents in oilseeds. Journal of Oleo Science 51, 589–597.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995. AFLP. A new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acid Research 23, 4407–4414.
- Wani, S.P., Osman, M., D'Silva, E., Sreedevi, T.K., 2006. Improved livelihoods and environmental protection through biodiesel plantations in Asia. Asian Biotechnology Development Review 8, 11–29.
- Wen, M., Wang, H., Xia, Z., Zou, M., Lu, C., Wang, W., 2010. Development of EST-SSR and genomic-SSR markers to assess genetic diversity in *Jatropha curcas* L. BMC research notes 3, 42.

- Willems, P., Kuipers, N.J.M., De Haan, A.B., 2008. Hydraulic pressing of oilseeds: experimental determination and modeling of yield and pressing rates. Journal of Food Engineering 89, 8–16.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18, 6531–6535.
- Wurdack, K.J., 2008. Molecular evolution and phylogenetics of Euphorbiaceae: Beyond the model organisms. Plant and Animal Genomes XVI Conference San Diego, CA.
- Yasemin, O., Guray, K.H., 2008. Effect of salinity and temperature on the germination of *Spergularia marina* seeds and ameliorating effect of ascorbic and salicylic acids. Journal of Environmental Biology 29, 959–964.
- Yi, C., Zhang, S., Liu, X., Bui, H., Hong, Y., 2010. Does epigenetic polymorphism contribute to phenotypic variances in *Jatropha cureas* L.? BMC plant biology 10, 259.
- Zaman-Allah, M., Jenkinson, D.M., Vadez, V., 2011. Chickpea genotypes contrasting for seed yield under terminal drought stress in the field differ for traits related to the control of water use. Functional Plant Biology 38, 270–281.
- Zhang, F.-L., Niu, B., Wang, Y.-C., Chen, F., Wang, S.-H., Xu, Y., Jiang, L.-D., Gao, S., Wu, J., Tang, L., 2008. A novel betaine aldehyde dehydrogenase gene from *Jatropha curcas*, encoding an enzyme implicated in adaptation to environmental stress. Plant Science 174, 510–518.
- **Zhang, X., Wu, N., Li, C., 2005**. Physiological and growth responses of *Populus davidiana* ecotypes to different soil water contents. Journal of Arid Environments 60, 567–579.
- **Zubieta, C.G., Ghiselli, L., Benedettelli, S., Palchetti, E., 2009**. Development of novel SSR markers from a genomic microsatellite library in *Jatropha curcas* L, in: Proceedings of the 53rd Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress, Torino.

ANNEXES

Annexe 1.

Fiche de collecte

Remarques importantes:

- 1. La collecte concerne que les fruits ; les graines sont collectées par défaut.
- 2. Prélever sur au moins 15 pieds distants les uns des autres d'au moins 100 m.
- 3. Si des provenances sont collectées dans la même zone, indiquer la distance approximative qui les sépare. Si possible cette distance doit valoir au moins 10km.
- 4. Récolter de préférence les vielles plantations (de plus de 5 ans).
- 5. Collecter au hasard et s'assurer de collecter les fruits sur des individus différents. Eviter la tentation de concentrer la collecte sur les individus portant le plus de fruits.
- 6. S'assurer que les fruits collectés sont mûrs et sains, les envoyer le plus tôt possible (48h à 72h au maximum). Sinon les séchés avec du silicagel. Eviter un séchage direct au soleil
- 7. Les fruits placés dans des sacs en plastiques ne doivent pas être fermés (ou fermés avec beaucoup d'air). Si des graines sont collectés, les mettre dans du papier et agrafer.
- 8. Collecter au moins 500g par pieds et conserver séparément les fruits de chaque pied.
- 9. Eviter de ramasser les fruits et graines retrouvés à terre (origine douteuse).

Nom de la provenance				Numéros de collection		
Date de collecte	jour	mois	années	heure		
Caractéristique du terrain (préciser ou cocher)	Couleur sol	Texture sol	pente	plateaux	montagne	
Méthode d'échantillonnage (cocher)	Au hasard	systématique				
Cordonnées géographiques	Cordonnées GPS		latitude		longitude	
Caractéristiques de la plantation	Haie vive (longueur)	Champ (taille)	âge	isolé	Distance d'avec une autre plantation	
Récolte	Nombre de plantes récoltées		Quantité fruits (g)			

Note du collecteur:

Contacts:

Annexe 2.

Ouattara, B., Diédhiou, I., Ndir, K. N., Agbangba, E. C., Cisse, N., Diouf, D., Akpo, E. L. and Zongo, J. D., 2013: Variation in seed traits and distribution of *Jatropha curcas* L. in Senegal. *International Journal of Current Research*, Vol. 5(2), 17-21.



International Journal of Current Research Vol. 5, Issue, 02, pp.017-021, February, 2013

RESEARCH ARTICLE

Variation in seed traits and distribution of Jatropha curcas L. in Senegal

^{1*}Ouattara, B., ²Diédhiou, I., ²Ndir, K. N., ^{1,3} Agbangba, E. C., ¹Cisse, N., ³Diouf, D., ³Akpo, E. L. and ⁴Zongo, J. D.

¹Centre d'Etudes Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS) BP 3320 Route de Khombole Thiès Sénégal

²Département de Productions Végétales, Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) Université de Thiès BP A296 Route de Khombole Thiès Sénégal

³Département de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar BP 5005 Dakar Sénégal ⁴Unité de formation et de recherche en sciences de la vie et de la terre (UFR/SVT), Université de Ouagadougou, 03 BP 7021, Ouagadougou 03, Burkina Faso

ARTICLE INFO

Article History:

Received 14th November, 2012 Received in revised form 06th December, 2012 Accepted 26th January, 2013 Published online 14th February, 2013

Key words:

Jatropha curcas L., Distribution, Seed traits, Senegal

ABSTRACT

A thorough and extensive germplasm exploration survey was undertaken during 2009 and 2010 to assess the distribution and variability in seed traits of *Jatropha curcas* L.* in Senegal. Nineteen accessions from different agro ecological zones of the country were collected to evaluate variability in seed characters. Trees aged at least 5 years only were considered. Among the seed traits studied, 100 seed weight ranged from 63.68 to 77.83 g and seed length from 17.89 to 19.15 mm. The highest 100 seed weight (77.83 g) was recorded for the accession Jc-16 collected from Mampatim. Accessions from Soudanian zone showed high values of seed traits while low seed traits were recorded in Soudano-Sahelian zone. Variability in seed traits was not linked to geographic location. Old plantations of *Jatropha curcas* are spread in the central, south and coastal zones of Senegal where the species is well known by the populations. However, the species was least represented above 400 mm isohyet and unfamiliar. No old plantation was observed in extreme north of Senegal.

Copy Right, IJCR, 2013, Academic Journals. All rights reserved.

INTRODUCTION

During the last years, Jatropha curcas L. has gained interest in Sahelian zone as biofuel crop. J. curcas is an oil bearing species and its oil can be converted to biodiesel that meets the American and European biodiesel standards (Tiwari et al., 2007). The interest for J. curcas in Sahelian zone is probably due to its high adaptability to wasteland then can be cultivated on marginal soils without compromising the food, fodder security and improve livelihoods in arid regions (Reddy et al., 2008). It sheds its leaves during the dry season, therefore is well adapted to arid and semi arid conditions characteristic of Sahelian zone. J. curcas belongs to Euphorbiaceae family and native from tropical South America (Carels, 2010). It was introduced in Africa and India by Portuguese seafarers (Heller, 1996). Cultivation of J. curcas can be done on well drained soils and requires low nutrient content (Heller, 1996). However, great variability in J. curcas growth and productivity was reported (Achten, 2008). Annual seed production can range from about 0.2 kg to more than 2 kg per plant (Francis et al., 2005). The major concern is that J. curcas is a wild species that domestication is at embryonic stage. Many authors recommended selection of best genotypes with high yield and oil content and variability studies are carried out to identify genotypes that can be used for amelioration programs of the species. The systematic work on germplasm exploration, characterization, utilization and documentation is of great importance to identify genetic variability for desired traits. Wide variation in 100 seed weight and oil content in accessions collected from India was reported (Ginwal et al., 2005; Rao et al. 2008,

*Corresponding author: obassiaka@yahoo.fr

Kaushik et al., 2007; Wani et al., 2006). In spite of wide spread of J. curcas in Senegal, little work has been done so far in this aspect and information on local J. curcas variability is at infancy stage. Though, tree species with a wide geographical distribution exhibits considerable variation in anatomy, physiology, morphology and genetics to survive and reproduce under varying environmental conditions over generations (Antonovics, 1971; Nienstaedt, 1975). Variation in germination behavior (Ouattara et al., 2011) and seedling growth inoculated with arbuscular mycorhizae (Leye et al., 2009) has been reported in J. curcas accessions from Senegal. Early, Heller (1996) has reported variability in plant growth and seed yield in trial experimentation in Senegal. The study of seed characters of tree born oilseed crops of natural population is often considered to be useful in evaluation of the genetic variability (Mohapatra et al., 2010). Genetic variation in seed traits of J. curcas can be of great potential in tree improvement programs, particularly selection of genotypes having more oil content and yield. The present study aims at identifying the regions of Senegal where old plantations are well represented and characterizing the variability in seed traits of 19 old accessions collected in three agro-ecological zones in the country.

MATERIAL AND METHODS

Several explorations of germplasm of *J. curcas* across Senegal have been undertaken between 2009 and 2010. Mature yellow fruits of *J. curcas* were collected from 19 accessions in November 2010 in three agro-climatic zones of Senegal (Fig 1). Climatic conditions of *J. curcas* fruits origins were represented in Table 1. Fruits were collected from at least ten trees in the same population spaced at least 10 m and randomly selected to ensure inclusion of local genetic

Annexe 3.

Ouattara B., Diédhiou I., Ndoye K. Diouf D., Akpo E. L., 2011: Effect of water regimes and pre-sowing treatments on seeds germination of different provenances of Jatropha curcas L. in Senegal. *International Journal of Science and Advanced Technology*. Vol: 1(9), 151-156.

Effect of water regimes and pre-sowing treatments on seeds germination of different provenances of Jatropha curcas L. in Senegal

Bassiaka Ouattara

Department of Plant Biology University Cheikh Anta Diop of Dakar Regional Centre for Studies on the Improvement of Plant Adaptation to Drought Thies, Senegal

obassiaka@yahoo.fr

Ibrahima Diedhiou Department of Crops Sciences University of Thies Thies, Senegal

Khadidiatou Ndoye Ndir Department of Crops Sciences University of Thies Thies, Senegal

Diégane Diouf Department of Plant Biology University Cheikh Anta Diop of Dakar Dakar, Senegal

Léonard Elie Akpo

Department of Crops Sciences, University Cheikh Anta Diop, Faculty of Sciences and Technology, Laboratory of Ecology and Ecohydrology Dakar, Senegal,

Abstract-This study aimed at exploring the effects of water regimes and pre-sowing treatments on germination of Jatropha curcas L (J. curcas). The experimental design was a split-split-plot with 3 replications. The main factor was water regime; the second was accession and the third, seed pretreatment. Ten seeds per treatment were used. Three water regimes were considered: 100%, 50% and 25% field capacity. Two Accessions of J. curcas collected from two different ecological areas of Senegal were used. Two levels of pretreatment, unsoaked seeds directly sown (control T0), seed immersed in tap water for 12h before sowing (T1). The study was done in the green house of the Regional Centre for Studies on the Improvement of Plant Adaptation to Drought of Senegalese Agriculture Research Institute (ISRA). Our results revealed that soaking J. curcas seeds for 12h significantly (P<0.01) enhanced seed germination parameters. The first germinations were noted 3 days after sowing. Water regime treatment had significant effect on the final germination percentage. Higher germination (52.5%) was observed at 50% field capacity followed by 25% field capacity treatment with 31.67%. One hundred percent field capacity showed the lowest final germination (12.92%). The accession of Sudan zone (JC-02) showed the higher germination (47.78%) whereas accession of Sudan-sahel zone Jc-01 had 16.94%. The best germination percentage (80%) was observed in 50% field capacity at T1 treatment with Jc-02 accession.

Key words: Jatropha curcas L., germination percentage, germination rate, pre-sowing treatment, water regimes, Senegal

I. INTRODUCTION

Since the oil crisis of the 1970s and recognition of the limitations of world oil resources, vegetable oils have received special attention ([1]; [2]). Jatropha curcas L.(J. curcas), an Euphorbiaceae, has gained interest for its oil convertible to biofuel, especially since it is drought tolerance and can be cultivated on marginal land, without competing with food production ([1]; [3]; [4]). J. curcas is a multipurpose large shrub or small tree of Latin American origin [5]. It was spread as a valuable hedge plant to Africa and Asia by Portuguese traders [6]. It is local adjusted throughout arid and semiarid tropical regions of the world with an average annual rainfall of between 300 and 1000 mm ([7]; [1]; [8]). J. curcas grows on well-drained soils with good aeration and is well adapted to marginal soils with low nutrient content and can increase soil fertility in a long run. It occurs mainly at lower altitudes (0-500 m) in areas with average annual temperatures well above 20 °C, but can grow at higher altitudes and tolerates slight frost. It is not sensitive to day length [9]. In Senegal, it is found in many parts of the country mainly in the south. Locally, it is grown as a boundary fence or

Annexe 4.

Poster

B. Ouattara I. Diédhiou, K.N. Ndir, D. Diouf, E.L. Akpo, J.D.Zongo: Etude du comportement germinatif et de la croissance de *Jatropha curcas* en relation avec la disponibilité de l'eau. Poster accepté pour être présenté à l'atélier final de RIPIECSA à Cotonou au Benin du 18 au 21 octobre 2011.







ETUDE DU COMPORTEMENT GERMINATIF ET DE LA CROISSANCE DE JATROPHA CURCAS EN RELATION AVEC LA DISPONIBILITÉ DE L'EAU

B. Ouattara^{1*} I. Diédhiou², K.N. Ndir², D. Diouf³, E.L. Akpo³, J.D.Zongo⁴

'Centre d'Etudes Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS) BP 3320 Route de Khombole Thiès Sénégal 'Département de Productions Végétales, Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) Université de Thiès BP A296 Route de Khombole Thiès Sénégal 'Département de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar BP 5005 Dakar Sénégal 'Unité de formation et de recherche en sciences de la vie et de la terre, Université de Ouagadougou

*Contact: obassiaka@yahoo.fr

Introduction

**Jatropha (Jatropha curcas L.), de la famille des Euphorbiaceae, est un arbuste originaire de l'Amérique du Sud bien adapté aux conditions climatiques et édaphiques austères (Heller, 1996).

«Jatropha fut jadis utilisé à travers le monde pour ses potentialités multiples (médicinale, et organique, fabrication de savon). La richesse de ses graines en huile (plus de 35%) facilitransformable en biodiesel lui vaut sa nouvelle notoriété.

• Jatropha apparaît comme une option pour stabiliser voire améliorer les revenus des agriculteurs dans un contexte de variabilité et de changement climatique.

Malheureusement, le potentiel agronomique reste encore à évaluer en zone semi aride et les besoins en eau à l'installation de la culture sont mal connus. Dans ce présent travail, les besoins en eau (principale contrainte de la production en zone semi aride) au stade germinatif et jeune plant de Jatropha sont évalués.

Matériel et méthodes

Les fruits jaunes de trois provenances issues de zones agroclimatiques différentes du Sénégal (bassin arachidier, Sénégal oriental et la haute Casamance) ont été collectées et séchées dans des conditions similaires.

Trente (30) graines par provenance ont été semées sur un substrat sableux de capacité au champs préalablement déterminée. Le dispositif expérimental est un split-split-plot avec trois répétitions. Le facteur principal est le régime hydrique, le facteur secondaire la provenance et le facteur tertiaire le prétraitement des graines. Trois régimes hydriques (100%; 50%, 25% capacité au champ) ont été étudiés. Deux niveaux de prétraitement des graines (immersion dans l'eau pendant 12h et graines non immergées) ont été réalisés.

La germination a été suivie quotidiennement pendant deux semaines. Quatre variables agromorphologiques ont été mesurées un mois après semis: la hauteur, le diamètre au collet, le agromorphologiques ont ète mesurees un mois apro-diamètre du houppier et le nombre de feuilles des plants





Résultats et discussion

Le taux de germination et les variables agromorphologiques mesurées sont significativement différents (tableau 1). La provenance du bassin arachidier n'ayant pas germé a été exclue de

raines pendant 12h dans l'eau de robinet a significativement amélioré la

La germination a été meilleure à ¼ capacité au champ suivi de ¼ capacité au champ. Le trop d'eau semble asphyxier l'embryon dans la graine. Une interaction provenance et régime hydrique a été notée.

La provenance de la haute Casamance (zone plus humide) a réagit plus positivement à tous les

régimes hydriques (figure 3).
Les plus grandes valeurs agromorphologiques ont été notées avec le régime hydrique capacité au champ (R1) tandis que les faibles valeurs ont été mesurées en ½ capacité au champ (R3)

Les pourcentages de germination notés sont inférieurs à ceux obtenus par samba et al. (2007) qui sont de 86%. Ceci pourrait s'expliquer par la duré de stockage des graines qui a été de dix mois à la température ambiante contre 3 mois à 4°c pour ces auteurs. Jatropha perd son pouvoir germinatif fors du stockage. Certains auteurs préconisent d'utiliser uniquement des graines issues de la dernière récolte pour le semis, car le pouvoir germinatif diminuerait rapidement. Nos résultats corroborent ceux de Islam et al. (2009) qui ont montré que le pouvoir germinatif de Jatropha variait de 10 à 95%. Par ailleurs, ces auteurs ont montré l'effet significatif du prétraitement des graines sur la germination. L'effet du stress hydrique sur la croissance des plantes s'explique par la réduction de la nutrition hydrominérale qui ralentit les processus métaboliques de biosynthèse. Neelam et al. (1994) ont montré que le stress hydrique réduisait de façon significative la croissance de Cymbopogon nardus L.

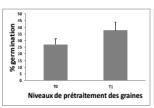


Figure 1: effet du prétraitement des graines sur le taux de germination (T0 graines non immergées, T1

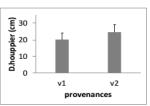


Figure 2: effet de la provenance sur le diamètre du houppier. (v1 pro

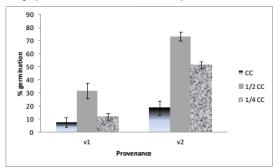


Figure 3: effet de la provenance et du régime hydrique sur la germination de Jatropha curcas L. (CC capacité au champ)

Tableau 1: effet du régime hydrique sur les variables agromorphologiques (R1=100%CC; R2=50%CC; R3=25%CC

Régime hydrique	Hauteur (cm)	D. collet (cm)	D. houppier (cm)	Nbr. Feuilles
R1	27.53°	9.54	38.22ª	13.61ª
R2	17.51 ^b	6.52 ^b	20.47 ^b	7.54 ^b
R3 Analyse statistique	8.54 ^c	4.06 ^c	8.79 ^c	3.44 ^c
P (5%)	0.0004	0.0007	0.0002	0.0002
moyenne	17.8609	6.7108	22.4953	8.1944
écartype	8.5431	2.5261	13.1983	4.7622

Conclusion et Perspectives

Cette étude a mis en évidence que la germination du Jatropha peut être améliorée par l'immersion des graines pendant 12h à l'eau de robinet. Par ailleurs, il a été noté que le d'eau pourrait inhiber la germination. Cependant, la croissance de Jatropha est meilleure en condition d'alimentation hydrique non limitative. Il existerait une variabilité du pouvoir germinatif de Jatropha en fonction des provenances.

Cette étude a porté uniquement sur les stades germination et jeune plant. Elle devrait s'élargir aux autres phases de développement de la plante afin de comprendre l'impact des traitements étudiés sur le rendement et la teneur en huile des graines.

Références bibliographiques

AK.M.A. Isam, N. Anuar and Z. Yaskok (2009): effect of genotypes and pre-sowing treatments on seed germination behavior c Jatropha. Asian journal of Plant sciences, 1862-3974, Malaysia. HELLER JOACHM (1996): Physic not. Jatropha curses. I. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gaterieleen/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome. Samba Anona, N.S., Bassirou Dialko, Moustapha Diop, Marroen Diatta, Abdou and M.N. Socro Sarr, Macoumbas Diou? 2007 Jatropha curcas: seed germination and propagation methods. In Expert Serniar on Jatropha curcas L. Agronomy and Genetic Wageningers: Institut Seriegalists de Recherches Agricoles (ISRN) - Laboratorier National des Recherches sur less Productions

Annexe 5.

Poster

Bassiaka Ouattara, Ibrahima Diédhiou, Khadidiatou Ndoye Ndir, Diégane Diouf, Elie Léonard Akpo, Jean Didier Zongo: Diversité génétique et comportement germinatif de Jatropha curcas L. au Sénégal. Poster présenté à l'atélier de Biologie moléculaire et génétique végétale corganisé par l'IRD-Dakar et l'Ucad du 19 au 28 novembre 2012 à Dakar









DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET COMPORTEMENT GERMINATIF DE JATROPHA CURCAS L. AU SÉNÉGAL

Bassiaka Ouattara¹¹, Ibrahima Diédhiou², Khadidiatou Ndoye Ndir², Diégane Diouf³, Elie Léonard Akpo³, Jean Didier Zongo⁴

- ¹Centre d'Etudes Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS) BP 3320 Route de Khombole Thiès Sénégal
- ²Département de Productions Végétales, Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) Université de Thiès BP A296 Route de Khombole Thiès Sénégal ³Département de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar BP 5005 Dakar Sénégal
- ⁴Unité de formation et de recherche en sciences de la vie et de la terre, Université de Ouagadougou *Contact: obassiaka@yahoo.fr

Introduction



Jatropha curcas L. (J. curcas) est un arbuste (photo 1) de la famille des Euphorbiaceae, originaire de l'Amérique centrale, pouvant atteindre jusqu'à 10 mètres de hauteur dans certaines conditions climatiques et résister au stress

centrale, pouvant atendre jusqua 1 u metres de nauteur dans certaines condinons climatiques et resister au stress hydrique ainsi qu'aux fortes pluviométries. J. curcas fournit divers produits et avantages qui contribuent à la réduction de la pauvreté. De tous ces avantages, c'est la richesse de ses graines en huile facilement transformable en biodiesel qui lui vaut sa nouvelle notoriété. Ainsi, plusieurs pays ont pris l'option de développer la culture de J. curcas avec l'objectif de produire du biocarburant et surtout d'améliorer les revenus des agriculteurs et stimuler l'économie rurale. Toutefois, le développement de la culture de J. curcas est limité par l'insuffisance de données scientifiques sur cette plante; en particulier sur ses besoins en eau et sa variabilité génétique.

Objectifs

↓Etudier la germination de *J. curcas* en condition d'alimentation hydrique limitative, ↓Analyser la variabilité génétique de *J. curcas* au Sénégal à l'aide de marqueurs microsatellites.

Photo 1: arbuste de J.curcas à vieux de 3 ans

Matériel et méthodes



Étude de germination

La germination de deux provenances de J. curcas issues de deux zones agroclimatiques du Sénégal (Sénégal oriental La germination de deux provenances de 8 curas issues de deux zones agrociminations du Genegal (deniegal interna-te la haute Casamance) a été étudiée. Le semis a été réalisé en serre sur un sol sableux. Trois régimes hydriques (100%; 50%, 25% capacité au champ) ont été étudiés. Deux niveaux de prétraitement des graines (T1: immersion des graines dans l'eau pendant 12h et graines non immergées, T0) ont été réalisés. Le dispositif expérimental est un split-split-plot avec trois répétitions. Dix graines ont été semées par traitement à une profondeur de 1 cm.

Analyse de la variabilité génétique

L'ADN de 10 individus différents d'une trentaine de provenances collectées dans des zones à conditions écologiques contrastées (pluviométrie, sol) a été extrait à partir de feuilles fraîches à l'aide de la méthode CETAB (Cethyl-Timethyl Ammonium Bromide). La PCR (Réactions de polymérisation en chaîne) a été réalisée en utilisant des marqueurs microsatellites et la révélation sur gel de polyacrylamide à 6%.



Photo 4: dépôt d'amplifiats sur gel de polyacrylar

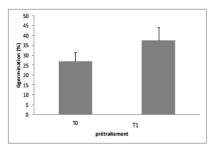
Résultats

L'immersion des graines pendant 12h dans de l'eau a un effet positif sur la germination de J. curcas (figure 1).

La germination de J. curcas est meilleure à 50% capacité au champ (figure 2).

La provenance de la haute Casamance (zone plus humide) a présenté les meilleurs paramètres de germination.

Une Faible variabilité génétique de *J. curcas* au Sénégal a été observée (photo 4).



rcentage de germination. T1: Figure 1: effet du prétraitement des graines sur le pou graines immergées dans l'eau durant 12h, T0: témoin

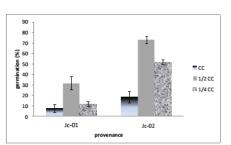


Figure 2: effet du régime hydrique et de la provenance sur le pourcentage de germin. Jc-01: provenance Sénégal oriental, Jc-02: provenance de la haute Casamance, CC: capacité au champ

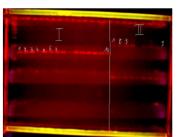


Photo 4: profil microsatellite obtenu par amplification avec les amorces jcps9 (II) et jcps20 (I) sur un gel de polyacrylamide (6%)

Conclusion et Perspectives

La germination du J. curcas est meilleure à 50% capacité au champ et peut être améliorée par l'immersion des graines

La germination du Curicas est infiniteure à 30% capacité au chain per peut ette americae par l'immeration des graines dans l'eau pendant 12h. J. curcas présente une faible variabilité génétique au Sénégal. L'étude effectuée devrait être élargie à la croissance et à l'impact des traitements étudiés sur le rendement et la teneur en huile des graines.

Annexe 6.

Poster

Bassiaka Ouattara, Ibrahima Diédhiou, Nouhoun Belko, Ndiaga Cissé, Diégane Diouf and Elie Léonard Akpo: Storage of water in stem improves growth performance and survival of Jatropha curcas in water scarce regions. Poster accepté pour être présenté au symposium intitulé « conference on desertification and land degradation » à Ghent en Belgique du 17 au 18 juillet 2013.









Storage of water in stem improves growth performance and survival of Jatropha curcas in water scarce regions

Bassiaka Ouattara^{1*}, Ibrahima Diédhiou², Nouhoun Belko¹, Ndiaga Cissé¹, Diégane Diouf³, Elie Léonard Akpo³

¹Centre d'Etudes Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS) BP 3320 Route de Khombole Thiès Sénégal ²Département de Productions Végétales. Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) Université de Thiès BP A296 Route de Khombole Thiès Sénégal

³Département de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar BP 5005 Dakar Sénégal *Contact: obassiaka@yahoo.fr

Introduction



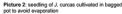
During the last years, Jatropha curcas L., a stem succulent shrub (picture 1) native to South America, has gained much attention as biofuel crop. It is promoted in Sahelian zone due to its high adaptability to grow on marginal soils without compromising food security and improve livelihoods in arid regions. However, cultivation of J. curcas is limited because of lack of scientific data on this species and its ability to perform in water scarce region is not well

Objectives

The objectives of this study are to:

analyze transpiration of J. curcas seedling under natural change in vapour pressure deficit (VPD),
 Assess the effects of water stress on J. curcas seedling transpiration and it development





Picture3: weighing of pot

Materiel and methods

J. curcas seedlings at 3 months old were submitted to progressive soil dry and leaf transpiration and growth have been investigated. Six accessions from three agro-ecological zones of Senegal were used. Seedlings were grown in pots filled with sandy-loam (2:1) soil and arranged in a randomized complete blocks design (picture 2). Seedling transpiration was assessed by weighing (picture 3).

Results & Discussion

Variation in leaf transpiration rate (TR) at outdoor conditions was closely linked to natural changing of VPD as illustrated in figure 1. the early stage of water stress J. curcas maintained its growth by producing new leaves (figure 2). However, with increasing water stress, leaf transpiration declined. Afterwards, it reduced its leaf area by dropping some of its leaves and stopping new leaves production. The closure of stomata and reduced leaf area reduced seedling growth. Water stored in the stem played an important role in sustaining growth in drought plant stressed since low water content was recorded in their stems. The fraction of transpirable soil water threshold of *J. curcas* at which leaf transpiration dropped was 0.39 (figure 3). At the end of experiment, low total plant biomass was recorded in drought stressed plants compared to the controls. Significant differences were observed in seedling growth between the different accessions. However, contrary to our expectation that accession from dry zone would be well coped with water stress, no distinguished pattern of tolerance was observed with these accessions. Total shedding of leaves seem to be the last mechanism used by seedling to avoid water loss and to survive in water stress conditions. Cultivation of J. curcas at large scale will probably affect soil-water dynamic and the risk of low production is real. However, the continuous survival of J. curcas during drought due to water content in stem indicates that it could be one of the agroforestry species which can be used to fight desertification

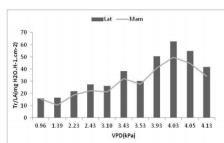


Figure 1: relationship between hourly transpiration and VPD. Lat accession from groundnut bassin and Mam from Upper Casamano

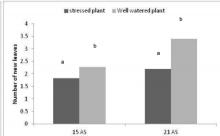
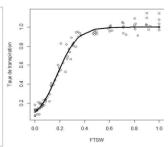


Figure 2: number of new leaves at 15th to 21th days after imposition of water stress



Conclusion

Large cultivation of J. curcas in Sahel zone might be have significant change in soil-water dynamic because of great vapor pressure deficit characteristic of this agro ecological zone. Then production of J. curcas in Senegal needs a clear policy strategy as well as in other country in West Africa with insufficient rainfall. Limiting cultivation in wasterland that are not suitable for crop production must be an option.