

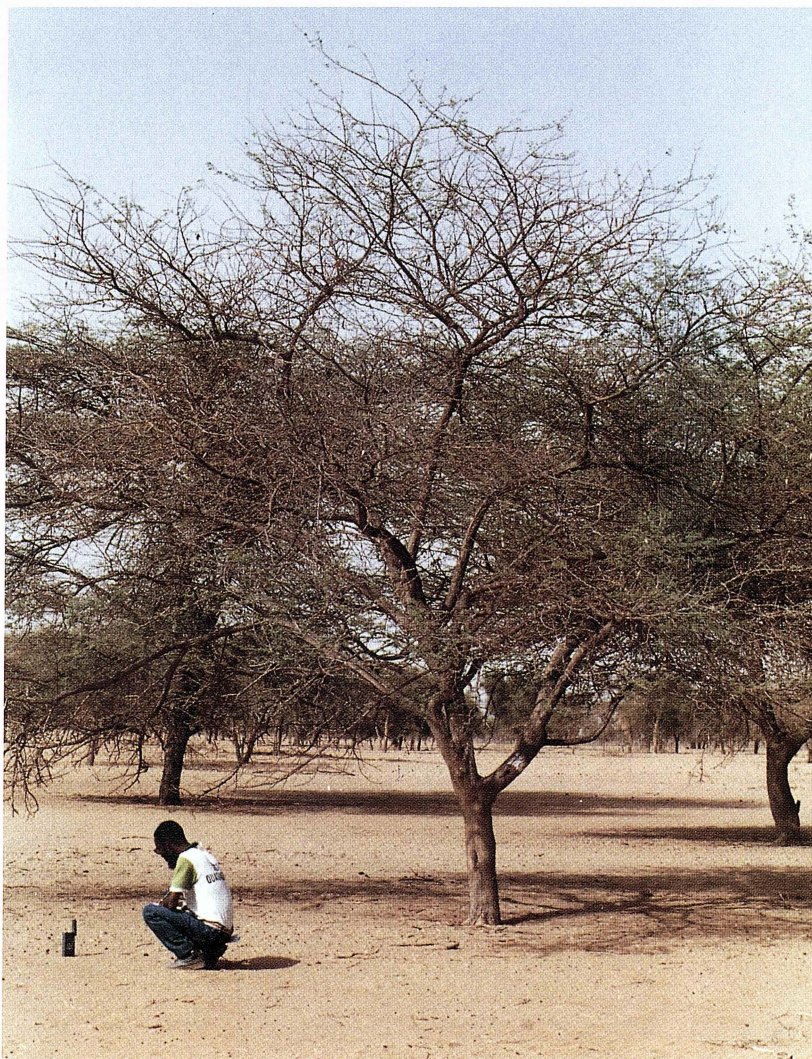
M.-H. CHEVALLIER, J.-P. BRIZARD
I. DIALLO, J.-M. LEBLANC

LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DANS LE COMPLEXE *ACACIA SENEGAL*

Face à l'érosion génétique des espèces forestières au Sénégal, la Direction des Recherches sur les Productions Forestières de l'ISRA, le CIRAD-Forêt et l'ORSTOM ont eu pour objectifs de développer des stratégies de sauvegarde des ressources génétiques et de mettre en œuvre des programmes d'amélioration d'un certain nombre d'espèces adaptées aux zones sahéliennes, tel l'*Acacia senegal*.

Positionnement (longitude-latitude) de la population d'*Acacia senegal* de Diamenar par système GPS.

Global positioning system (GPS) is used to determine the localization (longitude-latitude) of Diamenar population of Acacia senegal.



Depuis la fin des années 60, les périodes successives de sécheresse combinées à une pression démographique de plus en plus importante ont entraîné une forte dégradation de la végétation des zones sahéliennes et soudano-sahéliennes au Sénégal. En raison d'une demande croissante des populations en bois de feu, fourrage ou produits dérivés, la strate arborée a été particulièrement sollicitée. En 30 ans, la région du Ferlo est passée d'une savane arbustive dense avec des zones impénétrables à une steppe aux arbres dispersés où les dunes vives envahissent le paysage. Parmi les espèces les plus touchées se situe *Acacia senegal*, puisqu'une estimation de 1977 indique que 60 % de cette espèce du Nord-Ferlo avaient disparu à la suite des grandes sécheresses (POUPON, 1977).

C'est pourquoi l'ISRA, le CIRAD-Forêt et l'ORSTOM ont axé leurs activités sur la collecte, la conservation, l'évaluation et l'utilisation de la diversité génétique des populations naturelles des *Acacia* sp. Différentes méthodes permettent cette analyse : caractères agrosylvicoles étudiés grâce aux essais mis en place sur le terrain, caractères morphologiques ou marqueurs neutres révélés par électrophorèse d'enzymes (isoenzymes). L'intérêt d'utiliser les marqueurs biochimiques dans les programmes d'amélioration ou les recherches sur la taxonomie d'arbres forestiers a été largement démontré dans la bibliographie (ADAMS, 1983).

Dans une première partie, le présent article traite de l'évaluation de la variabilité génétique inter- et intra-populations par les marqueurs isoenzymatiques des origines sénégalaises d'*Acacia senegal* (DIALLO, 1992). Dans une deuxième partie, sont ajoutées à l'étude des formes apparentées qui composent le complexe d'espèces *A. senegal* (ROSS, 1979).

DESCRIPTION DU COMPLEXE *ACACIA SENEGAL*

■ *Acacia senegal*

A. senegal (L.) Willd., petit arbre de 2 à 7 m de haut, présente un port très ramifié, à branches ascendantes puis étalées, à épines courtes et courbes réunies par trois à la base du pétiole. Son aire de répartition, qui traverse toute l'Afrique septentrionale depuis l'océan Atlantique à la mer Rouge, se situe entre les 11^e et 17^e parallèles Nord (AUBREVILLE, 1950). On le retrouve aussi de l'Arabie Saoudite à l'Inde.

A. senegal est apprécié comme combustible, fourrage ou pour la carbonisation et la pharmacopée (MAYDELL VON, 1983). Malgré une chute de la production à cause des sécheresses récurrentes des deux dernières décennies, son principal intérêt reste la gomme arabique, dont 90 % sont produits par cette espèce.

Il existe des espèces proches avec lesquelles la confusion est possible



Acacia senegal.

en saison sèche, lorsque les arbres sont dépourvus de feuilles et de fleurs et entre lesquelles des flux de gènes sont probables (MAYDELL VON, 1983).

■ *Acacia dudgeoni*

Arbre des régions sahélo-soudanaises, très semblable à *A. senegal* et *A. laeta* (MAYDELL VON, 1983). Sa position taxonomique n'est pas clairement définie. AUBREVILLE (1950) considère *A. dudgeoni* comme la variété *samoryana* d'*A. senegal* dont l'appareil foliaire plus développé serait le fait d'un climat plus humide.



Acacia dudgeoni.

■ *Acacia laeta*

Espèce de zone sahélienne comme *A. senegal*, elle disparaît à l'ouest de la ligne Tombouctou-Mopti (MAYDELL VON, 1983). Les feuilles permettent de différencier les deux espèces lorsque l'on est en présence de types caractéristiques (AUBREVILLE, 1950). Cependant, il existe de nombreuses formes intermédiaires.

■ *Acacia mellifera* (Vahl) Benth.

Arbuste atteignant 9 m ; il se rencontre uniquement à l'est du lac

Tchad dans les régions très sèches d'Arabie du Sud, de l'Erythrée, de la Somalie et du Soudan. Espèce très proche de *A. gourmaensis* et *A. laeta*, elle diffère par ses feuilles qui n'ont qu'un petit nombre de pinnules et foliolules (MAYDELL VON, 1983).

■ *Acacia gourmaensis*

Arbuste de 7 m de haut ; il existe dans toute l'Afrique occidentale tropicale de la Côte-d'Ivoire au Nigeria (AUBREVILLE, 1950). Très proche de *A. mellifera*, il s'en distingue par ses feuilles mais surtout par une aire de distribution beaucoup plus soudanienne. Ses besoins en pluie dépassent 600 mm.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Une prospection a été effectuée sur l'ensemble de l'aire de répartition d'*A. senegal* au Sénégal. Onze provenances ont été retenues. Chacune est représentée par 15 à 30 arbres

sur lesquels des boutures ont été prélevées, puis mobilisées à la pépinière de l'ISRA/D.R.P.F. de Dakar.

Les espèces du complexe *A. senegal* proviennent de la collection de l'ISRA/D.R.P.F. Une seule origine géographique a été étudiée par espèce.

Les extractions ont été réalisées sur de jeunes feuilles issues des boutures, de semis ou sur les cotylédons et les électrophorèses sur gels d'amidon selon les méthodes de LEBRUN et CHEVALLIER (1990). 21 enzymes ont été testées parmi lesquelles 10 ont montré une bonne activité sur feuilles et cotylédons et sont analysées en routine. Il s'agit des alcool déshydrogénases (ADH), endopeptidases (ENDO), estérases (EST), glutamate oxaloacétatetransaminases (GOT), isocitrate déshydrogénases (ICDH), leucine aminopeptidases (LAP), malate déshydrogénases (MDH), phosphogluconate déshydrogénases (PGDH), phosphoglucoisomérases (PGI) et phosphoglucomutases (PGM).

RÉSULTATS

DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS SÉNÉGALAISES D'*ACACIA SENEGAL*

■ Interprétation génétique des zymogrammes

La structure quaternaire des enzymes, en général identique chez toutes les plantes, et la diploïdie de l'espèce, ont permis de formuler des hypothèses concernant le contrôle génétique des isoenzymes révélées. Les zymogrammes obtenus dans les populations sénégalaises sont décrits dans la figure 2, p. 8, à l'exception des PGI qui ne présentent qu'une seule bande. Les interprétations génétiques y sont également indiquées ; elles permettent d'expliquer tous les zymogrammes observés jusqu'alors mais pourront être remises en cause au fur et à mesure de l'état d'avancement des travaux. Les 10 enzymes révélées re-

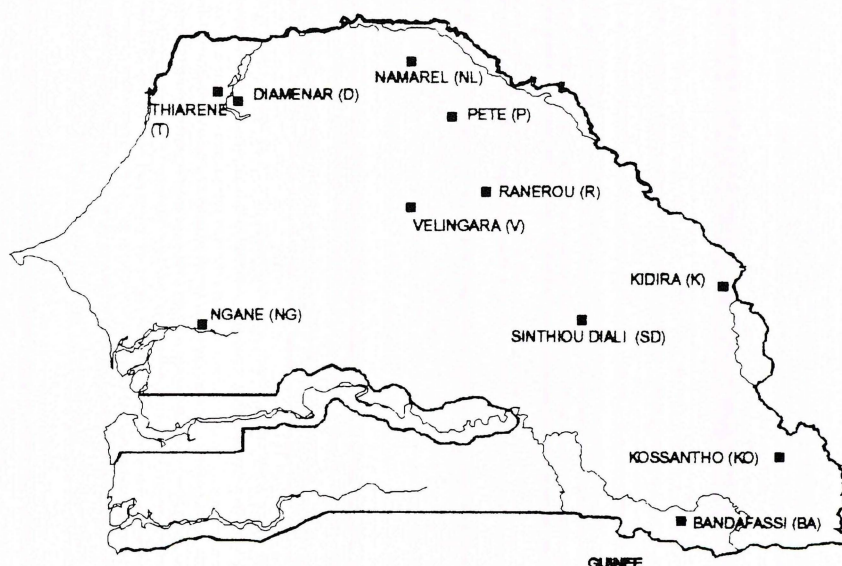


Figure 1. Répartition des populations d'*Acacia senegal* prospectées au Sénégal.

Distribution of Acacia senegal stands collected in Senegal.

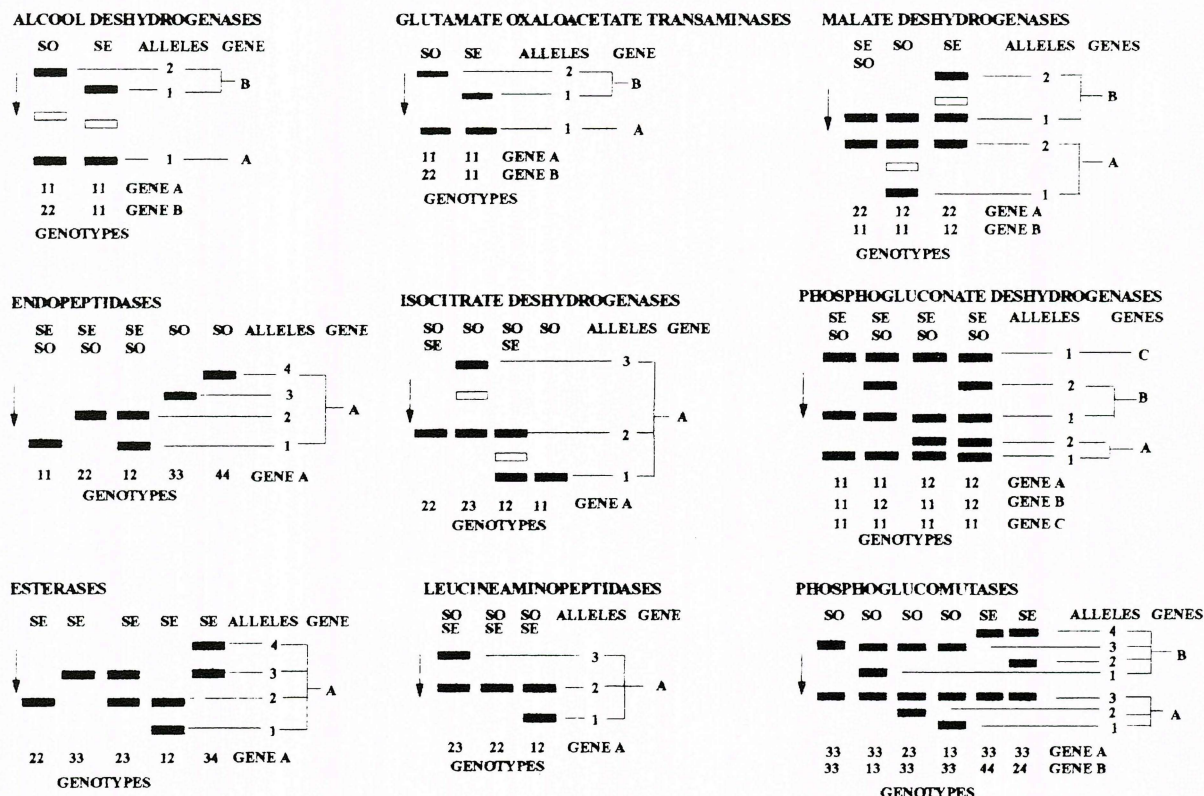


Figure 2. Interprétation génétique des zymogrammes obtenus sur *Acacia senegal*.
Genetic interpretation of zymograms of *Acacia senegal*.

SO : populations du Sénégal oriental (Bandafassi et Kossantho)

SE : Autres populations du Sénégal.

présentent 16 gènes potentiels et 37 allèles.

■ Diversité génétique des populations sénégalaises d'*A. senegal*

Le polymorphisme est faible puisque seulement 12 gènes ont été trouvés variables dans les populations sénégalaises d'*A. senegal*. En outre, une enzyme (PGI) reste totalement monomorphe quelle que soit la provenance considérée.

Les provenances se caractérisent par un taux de polymorphisme moyen de 47 % (le gène est considéré polymorphe lorsque la fréquence de l'allèle majoritaire est inférieure à 0,99 %), un nombre moyen d'allèles par gène de 1,54 et une hétérozygotie moyenne de 0,175 (DIALLO, 1992).

Une forte différenciation apparaît entre les populations du sud du Sénégal oriental (Bandafassi et Kossantho) et les populations plus septentrionales. Malgré un fort pourcentage d'allèles en commun, ces populations présentent des allèles spécifiques rencontrés nulle part ailleurs – PGM-A1, PGM-A2, ENDO-A3, ENDO-A4, ICD-A4, GOT-B2, ADH-B2 – (fig. 2). La différence entre les provenances du Sénégal oriental (SO) et les autres (SE) est particulièrement évidente sur le premier plan de l'analyse factorielle des correspondances, réalisée sur tous les arbres décrits par la présence ou l'absence des allèles (fig. 3). En revanche, il ne semble pas possible de structurer les populations septentrionales, caractérisées par une forte variabilité intrapopulation.

DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DU COMPLEXE *ACACIA SENEGAL*

La plupart des enzymes peuvent être révélées sur toutes les espèces à l'exception des ENDO et des EST qui ont une activité faible chez *A. mellifera* et *A. dudgeoni*. Il n'a pas été possible, non plus, d'obtenir une révélation correcte de certaines zones d'activités comme celles des ADH-B et PGM-B. Ce problème sera prochainement résolu en concentrant les extraits par lyophilisation.

Les zymogrammes observés dans le complexe *A. senegal* sont illustrés dans la figure 4, p. 10, pour six des enzymes étudiées. Des résultats intéressants sont mis en évidence :

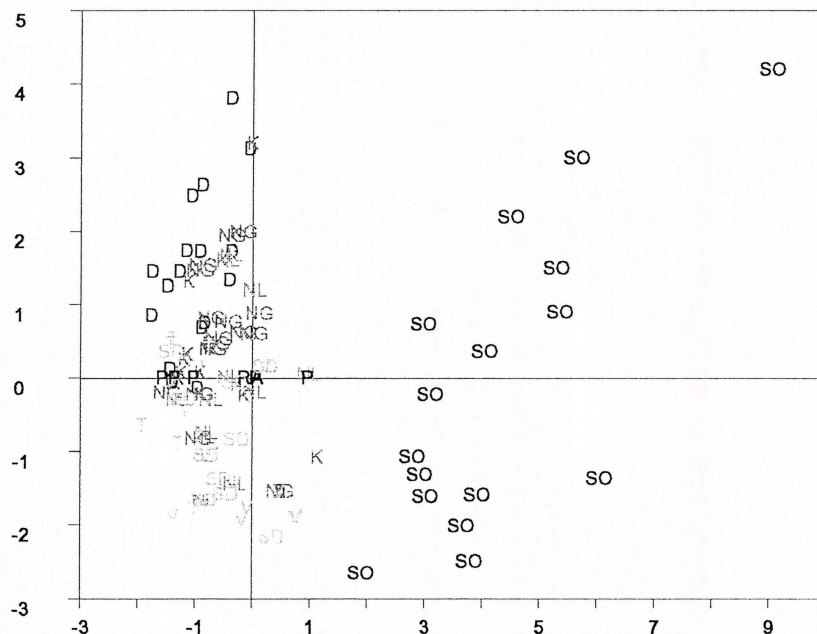
- Il n'existe qu'une faible différence dans les mobilités électrophoré-

Figure 3. Représentation de la diversité génétique des populations sénégalaises d'*A. senegal* sur le premier plan d'une analyse factorielle des correspondances.

Representation of the genetic diversity of *A. senegal* populations from Senegal. Projection on the first plan of a factorial analysis of correspondances.

tiques des isoenzymes, qui sont toutes révélées dans la même zone d'activité du gel chez toutes les espèces.

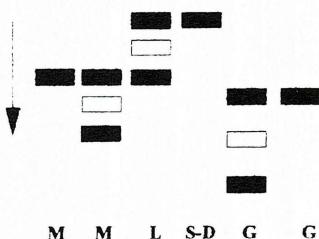
- Pour les ADH, ICDH, LAP, PGI et PGM, le nombre de gènes exprimés est identique chez toutes les espèces. Pour les MDH, deux gènes sont mis en évidence chez *A. senegal*, *A. dudgeoni* et *A. gourmaensis* et un seul chez *A. laeta* et *A. mellifera*.
- *A. senegal* et *A. dudgeoni* pré-



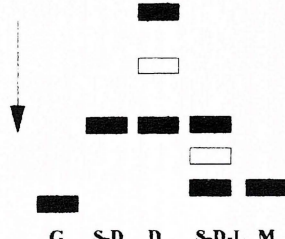
sentent des zymogrammes très proches avec de nombreuses bandes en commun. C'est le cas des ADH, LAP et PGI. Cependant, des

bandes spécifiques des populations du sud du Sénégal oriental apparaissent également chez *A. dudgeoni* pour les ICDH, MDH et PGM-A.

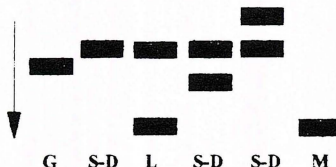
ALCOOL DESHYDROGENASES (Gène A)



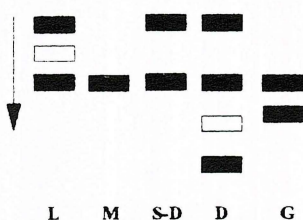
ISOCITRATE DESHYDROGENASES



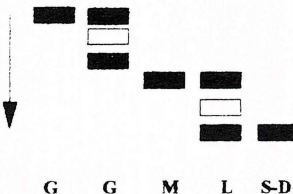
LEUCYLAMINOPEPTIDASES



MALATE DESHYDROGENASES



PHOSPHOGLUCOISOMERASES



PHOSPHOGLUCOMUTASES (Gène A)

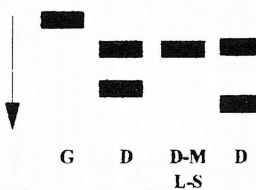


Figure 4. Zymogrammes obtenus dans le complexe *Acacia senegal*.
Zymograms observed in the *Acacia senegal* complex.

D : *Acacia dudgeoni*
G : *Acacia gourmaensis*
L : *Acacia laeta*
M : *Acacia mellifera*
S : *Acacia senegal*

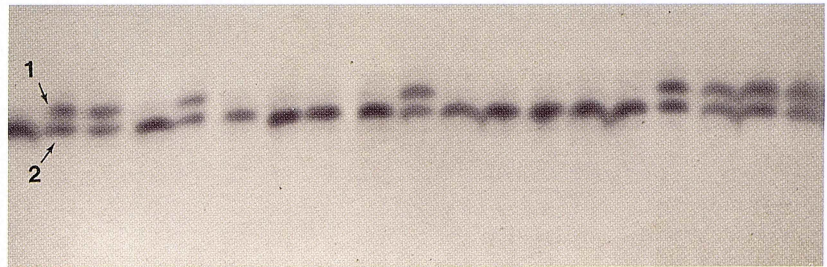
- Les zymogrammes des ADH, ICDH, LAP, MDH et PGI d'*A. laeta* semblent être le résultat d'une juxtaposition des isoenzymes d'*A. senegal* et d'*A. mellifera*. Une interaction entre les bandes est mise en évidence dans le cas des systèmes enzymatiques dimériques tels que les ADH-A, ICDH, MDH et PGI.

- *A. gourmaensis* a peu de bandes communes avec l'ensemble des espèces. Ses isoenzymes ont souvent une mobilité électrophorétique légèrement décalée par rapport à celle d'*A. senegal* ou d'*A. mellifera*.

DISCUSSION

Une faible variabilité génétique ($H = 0,175$) d'*A. senegal* sur toute son aire de dispersion sénégalaise a été clairement montrée. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus sur les populations sénégalaises d'une autre espèce *A. albida* ($H = 0,21$) par CHEVALLIER (résultats non publiés) bien que légèrement inférieurs. JOLY *et al.* (1992) ont, quant à eux, trouvé une variabilité plus importante ($H = 0,454$) toujours sur *A. albida*. Le fait que ces auteurs ont utilisé des gels de polyacrylamide réputés plus discriminants que les gels d'amidon a pu contribuer à révéler une plus forte diversité. Mais, surtout, les résultats obtenus sur *A. senegal* ne concernent que les populations sénégalaises alors que ceux sur *A. albida* (JOLY *et al.*, 1992) prennent en compte la totalité des provenances d'Afrique de l'Ouest. Il apparaît alors indispensable d'étudier différentes origines géographiques d'*A. senegal* couvrant au mieux l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce au niveau mondial.

La spécificité des provenances du Sénégal oriental est due à la présence d'allèles particuliers qui ont été rencontrés chez *A. dudgeoni* mais dans aucune des espèces étudiées jusqu'alors (fig. 4). Il faut sou-



Révélation sur gel d'amidon des endopeptidases. Deux bandes sont mises en évidence suggérant que l'enzyme est monomérique et contrôlée par un gène et deux allèles.

Revelation of the endopeptidase on starch gel. Presence of two stripes suggesting the monomeric structure of the enzyme and the control by a gene and two alleles.

ligner que les boutures issues des provenances sud-orientales ont montré des caractères foliaires similaires à ceux d'*A. dudgeoni*, ce qui était impossible d'observer au moment de la prospection, les arbres étant dépourvus de feuilles et les autres caractères morphologiques peu discriminants. Toutefois il ne sera possible de conclure sur l'identification de ces populations qu'après avoir étudié plus à fond la variabilité du complexe d'espèces *A. senegal*. Si des allèles spécifiques apparaissent fixés chez *A. dudgeoni*, ils pourront aider à une meilleure détermination et à définir les hybridations ou introgressions entre espèces.

Les isoenzymes ont permis de confirmer des relations taxonomiques entre espèces décrites par ROSS (1979) et AUBREVILLE (1950). Ainsi, *A. senegal*, *A. laeta* et *A. dudgeoni* sont très proches. En outre, *A. laeta* possède une hétérozygotie fixée. Ceci est en accord avec l'hypothèse de ROSS (1979), selon laquelle *A. laeta* serait issue d'un croisement interspécifique entre *A. mellifera* et *A. senegal*. En revanche, il est impossible sur la base des isoenzymes de confondre *A. gourmaensis* et *A. mellifera*, espèces réputées très voisines (ROSS, 1979 ; AUBREVILLE, 1950). Toutefois, ces résultats doivent être considérés avec une certaine prudence puisqu'une seule population par espèce, sauf pour *A. senegal*, a été analysée.

Il est évident que des études complémentaires sont nécessaires pour affiner ces résultats préliminaires. De nouvelles origines géographiques permettront d'avoir une vue globale de l'étendue de la variabilité génétique de l'ensemble des espèces. Il serait particulièrement intéressant d'intégrer dans nos études les provenances de la Corne de l'Afrique, région considérée comme un important centre de spéciation dans le genre *Acacia* (ROSS, 1981). Il serait également utile de faire appel à d'autres outils moléculaires comme les RFLP ou les RAPD, connus pour être plus performants dans les études de biosystématique des arbres forestiers (STRAUSS *et al.*, 1992). □

► M.-H. CHEVALLIER
CIRAD-Forêt
ISRA/D.R.P.F.
B.P. 2312
DAKAR (SÉNÉGAL)

► I. DIALLO
UCAD
Laboratoire de Biologie Végétale
B.P. 5005
DAKAR (SÉNÉGAL)

► J.-P. BRIZARD, J.-M. LEBLANC
Laboratoire de Génétique
et d'Amélioration des Plantes
ORSTOM
B.P. 1386
DAKAR (SÉNÉGAL)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMS (W.T.), 1983.
Application of tree breeding. In S.D. Tanksley and T.J. Orton, Eds. Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A. Elsevier, Amsterdam : 381-400.
- AUBREVILLE (A.), 1950.
Flore forestière Soudano-Guinéenne, A.O.F.-Cameroun-A.E.F. Paris : Société d'Edit. Géogr. Marit. et Colon., 523 p.
- DIALLO (I.), 1992.
Etude de la diversité génétique de populations d'*Acacia senegal* (L.) Willd. var. *senegal* par électrophorèse d'enzymes. Mémoire de D.E.A. UCAD. Dakar.
- JOLY (H.I.), ZEH-NLO (M.), DANTHU (P.) et AYGALANT (C.), 1992.
Population genetics of an African *Acacia* : *Acacia albida*. I. Genetic diversity of populations from West Africa. Austr. J. Bot., 40 : 59-73.
- LEBRUN (P.) et CHEVALLIER (M.-H.), 1990.
Starch and polyacrylamide gel electrophoresis of *Hevea brasiliensis* : a laboratory manual. IRCA-CIRAD Publisher, 55 p.
- MAYDELL (H.-J.) VON, 1983.
Arbres et arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Weikersheim : Margraf, G.T.Z.
- POUPON (H.), 1977.
Evolution d'un peuplement d'*Acacia senegal* (L.) Willd. dans une savane sahélienne au Sénégal de 1972 à 1976. Cah. ORSTOM, sér. Biol., 12, 4 : 283-291.
- ROSS (J.H.), 1979.
A conspectus of the African *Acacia* species. Mem. Bot. Surv. S. Afr., 44 : 1-155.
- ROSS (J.H.), 1981.
Analysis of the African *Acacia* species : their distribution, possible origins and relationships. Bothalia, 13, 314 : 389-413.
- STRAUSS (S.H.), BOUSQUET (J.), HIPKINS (V.D.) et HONG (Y.-P.), 1992.
Biochemical and molecular genetic markers in biosystematic studies of forest trees. New Forests, 6 : 125-158.

R É S U M É

DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DANS LE COMPLEXE *ACACIA SENEGAL*

A la suite des prospections réalisées sur l'aire de répartition d'*Acacia senegal* au Sénégal, l'analyse de la diversité génétique de cette espèce a été étudiée par les marqueurs isoenzymatiques révélés par électrophorèse sur 15 provenances.

Une interprétation génétique de 10 systèmes enzymatiques est proposé. *A. senegal* montre une diversité génétique faible ($H = 0,175$) et une variabilité intrapopulation importante. La diversité observée sur *A. senegal* est comparée à celle d'*A. dudgeoni*, *A. laeta*, *A. mellifera* et *A. gourmaensis* qui appartiennent au même complexe d'espèces. Les relations taxonomiques entre ces espèces sont discutées.

Mots-clés : *Acacia senegal*. Variation génétique. Marqueur génétique. Isoenzyme. Taxonomie.

A B S T R A C T

GENETIC DIVERSITY IN THE *ACACIA SENEGAL* COMPLEX

Seed collections of *Acacia senegal* have been carried out in its natural range in Senegal. Its genetic diversity has been assessed using isoenzymatic markers for 15 provenances. An hypothesis for the mode of inheritance of each of 10 enzymatic systems is proposed. *A. senegal* exhibits a low genetic diversity ($H = 0.175$) and a wide variation within populations. The genetic diversity of *A. senegal* is compared to the diversity observed in other species of the same complex : *A. dudgeoni*, *A. laeta*, *A. mellifera* and *A. gourmaensis*. Taxonomical relationships between these taxa are being discussed.

Key words : *Acacia senegal*. Genetic diversity. Genetic markers. Isoenzymes. Taxonomy.

R E S U M E N

DIVERSIDAD GENÉTICA EN EL COMPLEJO *ACACIA SENEGAL*

Luego de varias prospecciones realizadas sobre el área de repartición de la *Acacia senegal* en Senegal, el análisis de la diversidad genética de esta especie fué estudiada sobre la base de marcadores isoenzimáticos revelados por electroforesis sobre 15 proveniencias. Proponemos una interpretación genética de los 10 sistemas enzimáticos estudiados. La *Acacia senegal* presenta una diversidad genética débil ($H = 0,175$) y una variabilidad intra-población importante. La diversidad observada en *Acacia senegal* fué comparada con aquella de *A. dudgeoni*, *A. laeta*, *A. mellifera* y *A. gourmaensis* que pertenecen al mismo complejo de especies. Se discuten las relaciones taxonómicas entre estas especies.

Palabras clave : *Acacia senegal*. Variación genética. Marcadores genéticos. Isoenzimas. Taxonomía.

SYNOPSIS

GENETIC DIVERSITY IN THE ACACIA SENEGAL COMPLEX

M.-H. CHEVALLIER, J.-P. BRIZARD,
I. DIALLO, J.-M. LEBLANC

A considerable degradation of the tree « stratum » has occurred in the Sahelian and Sudano-Sahelian zones of Senegal following successive periods of drought combined with a demographic pressure which is becoming stronger and stronger. *Acacia senegal* is among the most threatened species : in 1977 it was estimated that 60 % of the trees of this species in the North Ferlo had disappeared after the « great droughts » (POUPON, 1977). Faced with this genetic erosion, collections of *A. senegal* have been made throughout its area of distribution in Senegal. Genetic diversity has been estimated, at the intra and inter-population levels, by isoenzyme markers, displayed electrophoretically, then compared to those of *A. dudgeoni*, *A. laeta*, *A. mellifera* and *A. gourmaensis* which belong to the same complex.

Enzyme extractions were carried out either on young leaves of cuttings or seedlings or on cotyledons and subjected to starch gel electrophoresis according to the methods of LEBRUN and CHEVALLIER (1990).

GENETIC DIVERSITY OF THE SENEGAL POPULATIONS OF *A. SENEGAL*

The 10 enzymatic systems seem to be

controlled by 16 genes and 37 alleles. Polymorphism is weak ; only 12 genes have been found to be polymorphic in the Senegal populations of *A. senegal*. In addition, one enzyme (PGI) was completely monomorphic in all provenances. On average the provenances have a level of polymorphism of 47 % (a gene is considered polymorphic when the frequency of its major allele is less than 0.99), a number of alleles per gene of 1.54 and a heterozygosity of 0.175 (DIALLO, 1992).

There is a large differentiation between the populations of the south of East Senegal and the more Northern ones. In spite of having many alleles in common, these populations contain specific alleles met nowhere else.

GENETIC DIVERSITY OF THE ACACIA SENEGAL COMPLEX

The zymogrammes for the *A. senegal* complex show significant differences between species which can be used for a better understanding of the taxonomy of this complex.

Thus *A. senegal* and *A. dudgeoni* have very similar zymogrammes with many bands in common. However, specific

bands, equally noted in the populations of the south of eastern Senegal, occur in *A. dudgeoni*. The identification of these populations is discussed.

A. gourmaensis has few bands in common with the rest of the species. Its isozymes often have an electrophoretic mobility somewhat different from of *A. senegal* or *A. mellifera*. Confusion between *A. mellifera* and *A. gourmaensis*, considered to be very similar, is thus impossible of an isozyme basis.

A. laeta possesses a fixed heterozygosity, a consequence of a juxtaposition of the isozymes of *A. senegal* and *A. mellifera*. This is in agreement with the hypothesis of ROSS (1979), according to which *A. laeta* would have resulted from an interspecific cross between the two species.

These results underline the need for studying new geographical origins better covering all the area of distribution of the different species so as to obtain a global view of the extent of the genetic variability of the complex. We propose using other molecular tools such as RFLP and RAPD, which are considered to be more powerful for studying the biosystematics of forest trees (STRAUSS *et al.*, 1992).