



Tolérance à la dessiccation des graines d'*Uapaca bojeri*, Euphorbiaceae

Hasinjato RANDRIANAVOSOA, Olivarimbola ANDRIANOELINA et
Lolona RAMAMONJISOA*

Silo National des Graines Forestières (SNGF), Ambatobe, 101 Antananarivo, Madagascar.

E-mail : silonagf@moov.mg; Tel : 261 20 22 402 85 ; Fax : 261 20 22 412 30

*Corresponding author; E-mail: lolona.sngf@moov.mg

RESUME

Uapaca bojeri, espèce endémique à usages multiples du versant occidental des hauts plateaux de Madagascar, présente des graines difficiles à conserver. Cette étude a pour objectif de connaître la tolérance à la dessiccation de ces graines afin de pouvoir les conserver convenablement. La germination des graines d'*Uapaca bojeri* séchées à l'ombre d'une part et entreposées sous différents degrés d'humidité relative d'autre part a été étudiée au SNGF. Les résultats ont donné un taux de germination compris entre 45 et 95%, avec une teneur en eau entre 20 et 30%, que ce soit après 10 à 15 jours de séchage à l'ombre ou sous une humidité relative allant de 60 à 84% pendant 26 jours. Il est ainsi conclu que les graines d'*U. bojeri* sont récalcitrantes et ne tolèrent pas une dessiccation en dessous de 20% de teneur en eau.

© 2011 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Uapaca bojeri*, graines, teneur en eau, taux de germination, conservation.

INTRODUCTION

Uapaca bojeri (Euphorbiaceae) est une espèce ligneuse endémique de Madagascar et caractéristique des formations forestières naturelles quasiment monospécifiques du type sclérophylle et dégradées des sites les plus secs des façades occidentales des hauts plateaux de l'île (Schatz, 2001). Sous forme d'arbuste ou d'arbre, l'espèce a une forme en boule avec un feuillage luisant et dense, un tronc très ramifié et une écorce ligneuse crevassée (Cabannis et al., 1999). *Uapaca bojeri* est une espèce à usages multiples. En effet, son feuillage sert à la fois d'habitat et d'aliments aux chenilles de « landibe » (*Borocera madagascariensis*) dont les fibres constituent la matière première utilisée dans la

confection de la soie malagasy. Les fruits sont comestibles et peuvent être utilisés dans la fabrication de boissons alcoolisées. L'écorce est utilisée en pharmacopée, dans le traitement de la dysenterie. Tandis que le bois entre dans la construction ou l'énergie domestique. Enfin, l'espèce joue un rôle important dans la stabilisation du sol des bassins versants.

En raison des multiples usages de la plante qui occasionnent la forte exploitation des forêts d'*Uapaca bojeri* d'une part et des feux de brousse répétitifs associés à la mise en pâturage des troupeaux d'autre part (Moat et Smith, 2007), l'espèce est menacée de disparition. Des actions de conservation ex-situ doivent donc être menées pour préserver l'espèce.

© 2011 International Formulae Group. All rights reserved.

Les graines d'*Uapaca bojeri* arrivent à maturité en décembre–janvier et sont conservées jusqu'en juillet-août, période pluvieuse, propice aux semis destinés à mettre en place des parcelles de conservation. Les techniques et les conditions de conservation des graines présumées récalcitrantes de l'espèce doivent être ainsi déterminées pour garantir une bonne germination au semis. En effet, cette phase est très importante dans la conservation de la biodiversité (Diallo et al., 2004). Par ailleurs, Leprince (2003) confirme que l'évaluation et la prédiction de la tolérance à la dessiccation est indispensable à l'optimisation des méthodes de conservation ex situ à long terme.

Cet article présente les résultats d'essais de dessiccation d'échantillons de graines d'*Uapaca bojeri* en milieu contrôlé c'est-à-dire au laboratoire de physiologie de semences du Silo National des Graines Forestières, Antananarivo, Madagascar.

MATERIEL ET METHODES

Dans le cadre de ce travail, les fruits murs d'*Uapaca bojeri* subissant une abscission naturelle ont été ramassés sur le sol par les paysans. Les fruits frais ont été ensuite conditionnés dans des paniers en fibre végétal et transportés immédiatement au dépôt du SNGF. L'extraction des graines a été effectuée par pression manuelle et rinçage à l'eau pour enlever les débris de pulpe (Rao et al., 2006). Après, les graines ont été essorées, en les étalant sur un tamis suspendu, et légèrement séchées à l'ombre sous un hangar avec une température entre 20 et 25 °C durant une demi-journée. Les graines ainsi traitées ont été par la suite entreposées dans cinq milieux avec différents degrés d'humidité relative HR (60, 66, 70, 75 et 84%) à 25 °C pour réduire progressivement leur teneur en eau. En effet, les graines sont hygroscopiques et absorbent ou émettent de l'humidité en fonction de l'humidité relative de l'air ambiante. Ainsi, plus le degré d'humidité relative ambiante est faible plus les graines ont tendance à libérer de l'eau et plus se

dessèchent. Ces degrés d'humidité relative ont été obtenus avec des solutions salines de chlorure de lithium à concentrations variables (Rao et al., 2006). Avec les solutions respectives de chlorure de lithium (d'une concentration molaire de 42,39 g/mol) composées de 30, 27, 25, 21 et 15 g de poudre diluée dans un litre d'eau ont été respectivement obtenus les degrés d'humidité relative de 60, 66, 70, 75 et 84%. La dessiccation progressive des graines permet de connaître le taux d'humidité critique de germination ou la teneur en eau minimale pour que les graines gardent un bon taux de viabilité (Hong et Ellis, 1996 ; Finch-savage, 1992 ; Walters, 1998 ; Reisdorph and Koster, 1999 ; Leprince, 2003).

La sensibilité à la dessiccation peut être ainsi évaluée en mesurant le taux de germination à différents intervalles de déshydratation (Rao et al., 2006)

500 grammes de graines ont été utilisés pour les différents tests (mesure de teneur en eau et essai de germination). Chaque mesure de teneur en eau a été effectuée avec 10 graines broyées dont 1 g de broyat a été prélevé pour être soumis à la balance dessiccateur électronique. Quarante (40) graines ont été utilisées pour les tests de germination avec une répétition de 4 x 10 graines.

Deux méthodes de dessiccation ont été testées :

- Séchage à l'ombre pendant 5 à 15 jours sous hangar avec une température comprise entre 20 et 25 °C avec un degré d'humidité relative variant entre 40 et 50% et les graines étaient étalées sur des claies en bois ;

- Séchage par entreposage durant 26 jours des graines dans des bocaux hermétiques en verre à différents degrés d'humidité relative.

Les tests de germination ont été menés sur substrat constitué par du sable fin tamisé et stérilisé placé dans une chambre de semis avec une température moyenne de 25 °C et sous lumière permanente.

Des analyses statistiques avec le test T de Student, ont été menées pour voir la significativité des résultats avec une probabilité de 95% des tests de germination et également une analyse de corrélation entre les différentes variables.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dessiccation et germination des graines d'*Uapaca bojeri* séchées à l'ombre

Le séchage à l'ombre montre que les graines libèrent de l'eau très rapidement dans les 5 premiers jours (réduction de près de 27% de la teneur en eau allant d'une valeur initiale de 36,55 vers 26,83%). Cette capacité de libération d'humidité des graines semble diminuer après cette première phase (8% du 5^{ème} au 10^{ème} jour, c'est-à-dire de 26,83 à 24,62% de teneur en eau et 4% du 10 au 15^{ème} jour allant de 26,62 à 23,62%) (Tableau 1). Ainsi, la teneur en eau des graines diminue en fonction de la durée de séchage et la vitesse de réduction régresse avec le temps.

Une corrélation négative entre la teneur en eau et la durée de séchage à l'ombre est observée (coefficient de corrélation de -0,88 ; Fig. 1). Autrement dit, la teneur en eau faible s'acquiert avec un temps de séchage prolongé. Il est remarqué toutefois que pour le séchage à l'ombre, les graines vers 20% de teneur en eau semblent atteindre un équilibre avec l'humidité relative du milieu ambiant selon la courbe de la Fig. 1 qui tend vers une asymptote.

La durée de la première levée de germination varie entre 13 et 21 jours. Les analyses statistiques ont montré qu'il existe une corrélation négative significative avec un coefficient de -0,79 entre la teneur en eau et la durée de la première levée de germination, plus la teneur en eau est faible, plus longue est la durée de la première levée de germination des semences de l'espèce (Fig. 2). Autrement dit, après la dessiccation des graines, la germination se produit lentement, et cela est expliqué par le temps nécessaire pour les graines de se réhydrater avant que la germination puisse se produire.

La durée totale de la germination des graines varie entre 28 et 49 jours. Les analyses statistiques ont montré qu'il existe une corrélation négative hautement significative avec un coefficient $r = -0,97$ entre la teneur en eau et la durée totale de germination (Fig. 2), plus la teneur en eau est faible, plus longue est la durée totale de germination des semences de l'espèce.

Entre les différentes durées de séchage, les taux de germination des graines varient entre 75 et 95% mais ne sont pas significativement différents. Ces taux sont relativement élevés et particulièrement la valeur maximale de 95% correspond à une teneur en eau de 23 à 24% obtenue après un séchage à l'ombre durant 15 jours. Pour les graines d'*Azadirachta indica* (Meliaceae), avec une teneur en eau de 20-21% après séchage avec des grains de silicagel, le taux de germination est aussi maximum (100%) selon les résultats rapportés par Baxter et Berjak (2004).

La faible teneur en eau prolonge le temps moyen de germination (comme le montre le Tableau 1).

Des essais similaires menés à titre comparatif sur des graines d'*Uapaca thouarsii* ont montré certaines tendances des graines du genre bien que la provenance écologique des espèces semble influencer le comportement des semences. En effet, les résultats obtenus avec *U. thouarsii* ont aussi montré un taux de germination corrélé négativement avec la teneur en eau des graines (taux de germination réduit avec une teneur en eau élevée). Cependant, la valeur de la teneur en eau initiale (juste après la collecte) différencie la physiologie des graines des deux espèces : pour *U. bojeri* (originaire de la forêt sclérophylle des hauts-plateaux, sous influence occidentale), la valeur est de 37% contre 41% pour *U. thouarsii* (provenant de la forêt humide orientale de moyenne altitude). Ce qui a comme conséquence que la dessiccation de *U. thouarsii* semble être beaucoup plus lente (teneur en eau de 28% après séchage progressif à l'ombre pendant 10 jours; cette valeur peut être atteinte à moins de 5 jours pour les graines d'*U. bojeri*).

Tableau 1 : Teneur en eau et germination des échantillons des graines séchées à l'ombre.

Echantillons de graines	Durée de séchage (nb jours)	Teneur en eau%	Délai de la 1 ^{ère} levée (nb jours)	Durée totale de la germination (nb jours)	Temps moyen de germination (nb jours)	Taux de germination %
Témoin	0	36,55	13	28	23	80 a
1	0	37,19	15	20	20	75 a
2	5	26,83	17	42	28	75 a
3	10	24,62	16	41	28	80 a
4	15	23,62	21	49	35	95 a

Il y a variation de la vitesse de dessiccation au cours du séchage. Les graines germent convenablement (taux de 75 à 95% : différence non significative). Une dessiccation des graines à près de 23% semble être adaptée pour maintenir la viabilité des graines de l'espèce *Uapaca bojeri*.

Tableau 2 : Teneur en eau et germination des échantillons de graines séchées à différentes humidités relatives.

Humidité relative HR%	Durée de séchage (nb jours)	Teneur en eau%	Délai de la 1 ^{ère} levée (nb jours)	Durée totale de la germination (nb jours)	Temps moyen de germination (nb jours)	Taux de germination %
Témoin	0	36,55	13	28	23	80 a
84	26	31,18	21	35	33	45 b
75	26	30,77	35	44	34	70 a
70	26	23,92	35	52	39	45 b
66	26	20,57	21	52	40	45 b
60	26	17,76	21	80	46	40 b

Les degrés d'humidité relative (60 à 84%) donnent des teneurs en eau des graines entre 18 et 31%. Les graines entreposées sous ces milieux germent moyennement (avec une tendance générale entre 40 et 45% de taux de germination).

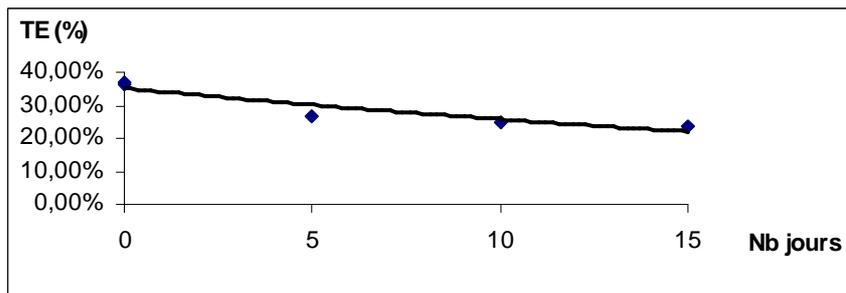


Figure 1 : Corrélation entre teneur en eau et durée de séchage.

La corrélation est négative entre la teneur en eau et la durée de séchage à l'ombre ($r = -0,88$). Plus la durée de séchage est longue plus la teneur en eau des graines diminue.

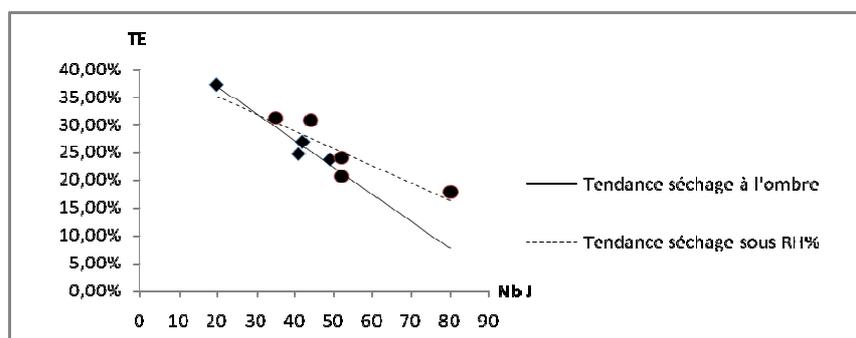


Figure 2 : Corrélation entre le délai de la première levée et la teneur en eau.

La corrélation est négative hautement significative ($r = -0,97$ avec le séchage à l'ombre et $r = -0,87$ avec le séchage sous différentes RH%) entre la teneur en eau et la durée totale de la germination. Plus la teneur en eau diminue, plus la durée totale de la germination des semences de l'espèce est plus longue.

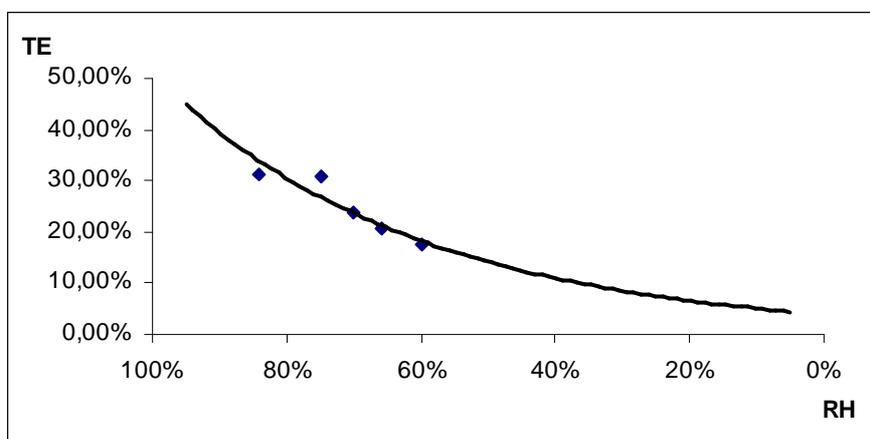


Figure 3 : Courbe isotherme (à 25 °C) entre l'humidité relative et la teneur en eau des Graines.

La corrélation est positive et hautement significative entre la teneur en eau des graines et le degré d'humidité relative du milieu ($r = 0,93$). Les graines libèrent plus d'eau suivant un gradient décroissant de l'humidité relative du milieu ambiant.

Dessiccation et germination des graines séchées sous différentes humidités relatives

Les degrés d'humidité relative utilisés (60 à 84%) ont permis d'obtenir des teneurs en eau des graines comprises entre 18 et 31% après 26 jours de séchage (Tableau 2). Il y a une corrélation positive hautement significative entre la teneur en eau des graines et le degré d'humidité relative du milieu (coefficient de corrélation de 0,93). Il est ainsi observé que les graines libèrent plus d'eau suivant un gradient décroissant de l'humidité relative du milieu ambiant. Autrement dit, l'hygrométrie des graines d'*Uapaca bojeri* fait qu'elles gardent une teneur en eau élevée dans un milieu à haute humidité relative.

La première levée des graines semble être indépendante de la teneur en eau contrairement à ce qui se passe après séchage à l'ombre. Cette situation est traduite par un coefficient de corrélation non significatif de 0,38% entre les deux variables (Fig. 2).

La variable temps moyen de germination est fonction négative de la teneur en eau : la durée augmente au fur et à mesure que les graines sont plus desséchées.

La durée totale de la germination des graines varie entre 35 et 80 jours pour *Uapaca bojeri* séchées sous différents degrés d'humidités relatives. La durée est plus longue pour une autre espèce de la même famille Euphorbiaceae, *Hioronyma alchorneoides* testée par William, Salazar et Thomsen (2004) in Costa Rica and Danemark. Les analyses statistiques des graines d'*Uapaca bojeri* ont montré qu'il existe une corrélation négative significative avec un coefficient $r = -0,87$ entre la teneur en eau et la durée totale de germination (Fig. 2), plus la teneur en eau est faible, plus longue est la durée totale de germination des semences de l'espèce.

Les taux de germination des graines entreposées sous ces milieux à différents degrés d'humidité relative varient significativement entre 40 et 80%.

Le meilleur milieu de conservation pourrait être à une HR de 75%, permettant de garder une teneur en eau de 30% pour *U.*

bojeri et d'avoir une germination convenable avec un taux de 70%.

Il y a une différence entre les degrés d'humidité relative faible de l'air ambiant et de la teneur en eau élevée des graines au début des essais. Ce qui entraîne une libération rapide d'une grande quantité de vapeur d'eau de l'intérieur des graines (par désorption) pour atteindre rapidement un pseudo-équilibre avec l'air environnant. C'est ce phénomène qui a eu lieu avec les graines d'*U. bojeri* dans les 5 premiers jours de séchage à l'ombre.

Il a été remarqué (Fig. 2) que plus la teneur en eau est faible, plus longue est la durée de la première levée de germination des semences de l'espèce. Le fait est que l'imbibition des graines prend plus de temps pour la reprise de vie (reprise du métabolisme et de la respiration).

Dans la Figure 3, la courbe de tendance est de type exponentiel et permettrait de prévoir le degré d'humidité relative nécessaire pour obtenir la teneur en eau voulue pour un lot de graines d'*Uapaca bojeri* à 25 °C. Cette courbe serait l'isotherme de taux d'humidité pour les graines d'*U. bojeri* selon la théorie de Bradford (2004).

La plus faible valeur de teneur en eau enregistrée pour les graines d'*Uapaca bojeri* est près de 18%, avec un échantillon placé sous une humidité relative de 60%. Le lot a germé avec un taux de 40% et un délai de levée relativement long (80 jours). Il semble ainsi que c'est la teneur en eau critique pour les graines de cette espèce. En effet, selon Reisdorph et Koster (1999) cités par Leprince (2003), la teneur en eau avec laquelle plus de la moitié du lot de graines perdent leur viabilité (taux de germination < 50%) est considérée comme étant la teneur critique en eau. Ce qui présume un statut récalcitrant des graines d'*Uapaca bojeri*. Aussi Pritchard (2007) atteste que ce type est caractérisé par des graines de grande taille et présentant un tégument à faible proportion de matières sèches, comme celles d'*Uapaca bojeri*.

Les résultats obtenus sur la germination des graines passant de 70 à 45% après dessiccation pendant 26 jours sous une humidité relative de 75 et 70% et atteignant 30,77 et 23,92% de teneur en eau, sont comparables à ceux obtenus avec d'autres lots en 2008 au même laboratoire du SNGF : le taux de germination des graines avec une teneur en eau respective de 30,97 et 27,52% passait de 73 à 43% après 1 mois de stockage à la température ambiante (20 – 25 °C). Par ailleurs, l'essai a été plus prolongé en 2008, c'est ainsi qu'après deux mois de conservation dans les mêmes conditions, la viabilité des graines a été totalement perdue (taux de germination nul). Ce qui confirme que la dessiccation des graines s'est poursuivie et que la réduction de la teneur en eau a été si forte qu'elle a entraîné le dessèchement complet.

Conclusions

Les graines d'*U. bojeri* sont récalcitrantes et tolèrent mal la dessiccation. Les meilleurs taux de germination ont été observés avec des teneurs en eau entre 23 et 25%. Ces valeurs devraient être par ailleurs maintenues pour un maintien de viabilité des graines conservées à 5 °C jusqu'au moins à la période de semis idéale (7 à 8 mois après la récolte). Il s'avère ainsi que la conservation ex situ de l'espèce *Uapaca bojeri* devrait être réalisée par la mise en place de plantations de conservation ou peuplements conservatoires (Nanson, 2005) plutôt que par la banque de semences. Et comme la période de maturité et donc de collecte de graines est éloignée de celle habituelle du semis, la maîtrise de la technique de production de plants d'*Uapaca* est indispensable pour développer leur croissance et maintenir leur vigueur en pépinière avant la mise en terre sur le terrain. Pour cela, l'étude sur la mycorhization qui est un phénomène favorable au développement des plants d'*Uapaca bojeri* a été déjà développée par Ramanankierana (2005).

REMERCIEMENTS

C'est grâce au Projet Millennium Seed Bank initié par le Royal Botanic Gardens que le SNGF a pu développer au mieux ses activités de recherche en physiologie de graines forestières. Ainsi, nous adressons notre reconnaissance, pour leur appui scientifique, matériel et financier, aux responsables centraux de ce projet à Wakehurst Place, Ardingly, West Sussex RH17 6TN, United Kingdom.

REFERENCES

- Baxter D, Berjak P. 2004. Desiccation trials on Neem, *Azadirachta indica*. Plant Cell Biology Research Unit. School of Biological Sciences, University of KwaZulu-Natal, Durban 1041, South Africa. 3p.
- Bradford KJ. 2004. *Seed Storage and Longevity. Seed Production and Quality*. UC Davis, Seed Biotechnology Center: USA; 76–84.
- Cabannis Y, Chabouis L, Chabouis F. 1999. Végétaux et groupements végétaux de Madagascar et des Mascareignes. Tome I. Bureau pour le Développement de la Production Agricole, agence de Madagascar, Tananarive . 390 p.
- Diallo I, Wade M, Sar AS, Gaye A. 2004. Storage of recalcitrant seeds of *Cordyla pinnata* from Senegal. *Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds*. IPGRI: 95-101.
- Sacandé M, Joker D, Dullo ME, Thomsen KA. 2004. *Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds*. International Plant Genetic Resource Institute: Rome, Italy; 95-101.
- Finch-savage WE. 1992. Embryo water status and survival in the recalcitrant species *Quercus robur* L. water status and endogenous abscisic acid levels. *Journal of Experimental Botany*, **43**: 671-679.
- Hong TD, Ellis RH. 1996. A protocol to determine seed storage behavior. IPGRI Technical Bulletin N°1. International

- Plant Genetic Resource Institute, Rome, Italy. pp.127-135
- Leprince O. 2003. Assessing Desiccation sensitivity from diagnosis to prognosis in seed conservation. *Turning Science into Practice*, Smith RD, Dickie JB, Linington SH, Pritchard HW, Probert RJ (eds). Royal Botanic Garden: Kew; 391-414.
- Moat J, Smith P. 2007. *Atlas of Vegetation of Madagascar*. Royal Botanic Gardens: Kew; 38.
- Nanson A. 2005. *Génétique et Amélioration des Arbres Forestiers*. Les Presses Agronomiques de Gembloux ; 568-574.
- Pritchard H. 2007. Prédiction de la sensibilité à la dessiccation des semences. SAMARA issue 12, January-june 2007 : Le bulletin d'informations international des partenaires du Millenium Seed Bank Project; p.7.
- Ramanankierana H. 2005. La symbiose mycorhizienne dans la domestication de *Uapaca bojeri*, plante ligneuse endémique de Madagascar. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, 130p.
- Rao NK, Hanson J, Dulloo ME, Ghosh K, Nowell D, Larinde M. 2006. Manuel de manipulation des semences dans les banques de gènes. *Manuels pour les Banques de Gènes* (No. 8). Bioversity International: Rome, Italie ;181p.
- Reisdorph NA, Koster KL. 1999. Progressive loss of desiccation tolerance in germinating pea (*Pisum stivum*) seeds. *Physiologia Plantarum*, **105**: 266-271.
- Schatz G. 2001. *Flore Générique des Arbres de Madagascar*. Royal Botanic Gardens Kew et Missouri Botanical Garden; 176-177.
- Walters C. 1998. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research*, **8**: 223-256.
- William V, Salazar R, Thomsen KA. 2004. Drying and storing *Hieronyma alchorneoides* fruits. CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica. 4p.