

# L'ANALYSE DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE DANS LE GENRE *COFFEA* : ADAPTATION D'UNE MÉTHODE D'ÉLECTROPHORÈSE EN SÉRIE PREMIERS RÉSULTATS

F. BERTHOU, P. TROUSLOT

ORSTOM, Centre d'Adiopodoumé, Côte d'Ivoire

L'analyse du polymorphisme des organismes vivants consiste dans « la séparation de plusieurs catégories d'individus sur la base de caractères repérables visuellement et obéissant à un déterminisme mendélien simple » (Lamotte, 1974). Grâce aux progrès de la biologie moléculaire, l'estimation de la variabilité génétique a pris un nouvel essor depuis dix ans, lié à l'emploi de la technique d'électrophorèse. Celle-ci permet d'observer les différentes formes multiples qu'une protéine peut revêtir. C'est cette méthode d'étude du polymorphisme biochimique que nous avons appliquée à l'étude de la variabilité génétique des caféiers.

Nous avons d'abord mis au point une méthode d'électrophorèse en série adaptée à la caractérisation de trois enzymes différents : Phosphatase acide (Phos. A), Malate déhydrogénase (Mdh), Estérase (Est. A et

B). Ces analyses ont porté sur cinq espèces de caféiers (*Coffea arabica*, *C. liberica*, *C. canephora*, *C. congensis* et *C. eugenioides*) et sur une espèce voisine (*Paracoffea ebracteolata*). L'analyse du déterminisme génétique de la bande électrophorétique Phos. A 1,05 chez l'espèce *C. arabica* nous fournira le premier exemple d'un caractère isoenzymatique. Comme la nature génétique des variants électrophorétiques observés est en cours d'analyse, notre étude préliminaire du polymorphisme et des affinités enzymatiques se fonde sur la comparaison des bandes électrophorétiques (ou électromorphes), c'est-à-dire des formes multiples lues pour les trois enzymes analysés.

Nous présenterons d'abord la méthode d'électrophorèse en série utilisée, puis nous donnerons les premiers résultats acquis sur le polymorphisme électrophorétique des caféiers.

## ADAPTATION D'UNE MÉTHODE D'ÉLECTROPHORÈSE EN SÉRIE DES CAFÉIERS

L'analyse en électrophorèse des caféiers se heurte à une difficulté essentielle : la présence chez cette plante de tannins inhibiteurs d'enzymes. Dans les premières tentatives d'analyse en électrophorèse des caféiers, Guedes en 1974 et Payne en 1976 ont travaillé en gel de polyacrylamide à partir d'extraits purifiés. Pour notre part, nous avons opté pour la technique d'électrophorèse en gel d'amidon à partir d'extraits bruts. Ce support de migration se prête à l'incorporation de Polyvinylpyrrolidone insoluble (P.V.P.) qui absorbe les polyphénols (Andersen, 1968). Cette méthode est aussi plus rapide parce qu'elle ne nécessite pas la purification préalable de l'extrait. Elle présente enfin l'avantage d'être applicable à des quantités infimes de matériel végétal, de l'ordre de 0,1 à 0,5 g.

### Mode de prélèvement

Pour caractériser un caféier, arbre pérenne, la feuille est l'organe le plus intéressant, analysable en toutes saisons et à tous les stades du développement de la plante. Nous récoltons les feuilles nouvellement formées à l'extrémité des rameaux [rang n et (n-1)], en plantation ou en pépinière. Nous avons aussi employé les jeunes plantules extraites de graines mises en germination pendant quinze jours. Celles-ci appartiennent à la génération suivante et la variabilité génétique de la descendance dépend alors de la structure génétique du pied-mère et de son mode de reproduction. Nous réserverons donc l'utilisation de ces jeunes plantules à l'étude électrophorétique de l'espèce auto-

14 OCT. 1983

O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

ASIC, 8<sup>e</sup> Colloque, Abidjan, 1977

N° : 3373

Cote : B

29 DEN 1980

O. R. S. T. O. M373

Collection de Référence

n° 10.122 B.P.P.U.

B3373

game *C. arabica* et à l'analyse des disjonctions dans les descendances.

Chez *C. arabica*, sur les vingt-trois électromorphes séparés soit avec des feuilles en élévation, soit avec des jeunes plantules, dix-neuf sont identiques. Ce résultat est illustré par la figure III (p. 376) pour l'enzyme Phos A. : le zymogramme du témoin obtenu à partir d'extrait foliaire ne diffère des zymogrammes d'extraits de plantules que par l'absence de deux électromorphes bien localisés.

Les bandes électrophorétiques mises en évidence à partir des extraits foliaires d'une souche donnée de l'espèce *C. canephora* sont parfaitement stables quel que soit l'âge de l'arbre, la position altitudinale de la feuille ou le géotropisme, orthotrope ou plagiotrope, de l'axe qui la porte. De même, les types de séparation obtenus pour une feuille de rang (n) en début de croissance et une feuille de rang (n-1) en fin de croissance sont presque équivalents : sur seize à vingt-quatre électromorphes séparés dans cette espèce à partir de trente clones différents, quatorze à vingt-deux sont stables. Afin d'obtenir le maximum de sécurité pour la reproductibilité des analyses, nous utilisons uniquement les jeunes feuilles terminales en pleine croissance, et nous ne retenons que les bandes électrophorétiques dont la stabilité, d'un stade à l'autre, est bien établie.

### Méthodes d'extraction, de séparation en électrophorèse et lecture des résultats

Dans notre méthode simplifiée d'électrophorèse en gel d'amidon, dans lequel a été incorporé le P.V.P., la

succession de manipulations simples à effectuer s'échelonne sur 24 h ; celles-ci rendent en effet inutiles des opérations plus complexes telles que la pesée de matière verte, le broyage mécanique, la centrifugation ou la dialyse.

Les feuilles ou les jeunes plantules extraites des graines sont broyées dans un poids égal de P.V.P. humecté d'une solution réductrice tamponnée à pH 6,0 (Loomis et Bataille, 1965) ; le broyat est ensuite pressé dans une seringue à travers un tamis pour extraire l'échantillon qui est immédiatement inséré dans le gel d'électrophorèse. Ces deux opérations s'effectuent manuellement à 10 °C.

L'électrophorèse utilise un support horizontal solide constitué de 14 % d'amidon gélifié et de 1,5 % de P.V.P., incorporé dans le gel avant gélification. En ce qui concerne les systèmes de tampon de gel et de bacs utilisés, le procédé Spencer (1964) convient à la séparation électrophorétique des enzymes Phos. A et Est. (in : Smith, 1968) ; le procédé Brewer (1970) convient à la séparation des formes multiples de l'enzyme Mdh. L'électrophorèse dure 20 h sous 6 volts/cm à 4 °C. La révélation des enzymes est réalisée suivant Shaw et Prasad (1970).

La lecture des mobilités électrophorétiques s'effectue par référence à l'échelonnement des bandes électrophorétiques d'un témoin obtenues dans les mêmes conditions. Nous avons utilisé comme témoin la souche 632-2 de l'espèce *C. arabica*. La position de chaque bande électrophorétique est désignée par le rapport de sa mobilité à la mobilité de la bande du témoin choisie comme référence.

Avec cette méthode d'électrophorèse, la capacité d'analyse est de vingt-cinq échantillons par jour et par expérimentateur pour l'étude simultanée des trois enzymes : Phos. A, Mdh et Est. A et B.

## COMPARAISON DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE DES ESPÈCES *C. ARABICA*, *C. CANEPHORA*, *C. CONGENSIS* ET *C. LIBERICA*

L'échantillonnage des espèces étudiées est le suivant (Berthaud, 1977) :

*C. arabica* : dix origines éthiopiennes représentées par dix plantes chacune.

*C. canephora* : cent vingt-cinq clones originaires de Côte d'Ivoire, de Centrafrique et du Zaïre.

*C. congensis* : trois populations de Centrafrique représentées par deux cent trente-sept individus au total.

*C. liberica* : douze populations de Centrafrique représentées par deux cent quarante individus au total.

L'analyse d'un échantillon de n individus par espèce permet de repérer sur les trois enzymes étudiés N bandes électrophorétiques au total. Leurs fréquences  $x_i$  pour chaque espèce figurent dans l'annexe A. Ces

données permettent l'estimation d'un index de polymorphisme (I.P.) calculé d'après la formule de Marshall et Allard (1970) :

$$I.P. = \frac{\sum x_i(1 - x_i)}{N}$$

L'ensemble des valeurs n, N et I.P. est présenté dans la figure I.

A la lecture de cette figure, il ressort que les valeurs de l'index de polymorphisme des espèces allogames *C. canephora*, *C. congensis* et *C. liberica* sont équivalentes (I.P. = 0,043 à 0,055) et nettement supérieures à la valeur de l'index de l'espèce autogame *C. arabica* (I.P. = 0,003). Le polymorphisme électrophorétique

FIGURE I Index de polymorphisme

$$I.P. = \frac{\sum x(1-x)}{N}$$

$x$  désigne les fréquences des bandes électrophorétiques dans l'espèce,  
 $N$  le nombre total des différentes bandes : 50.

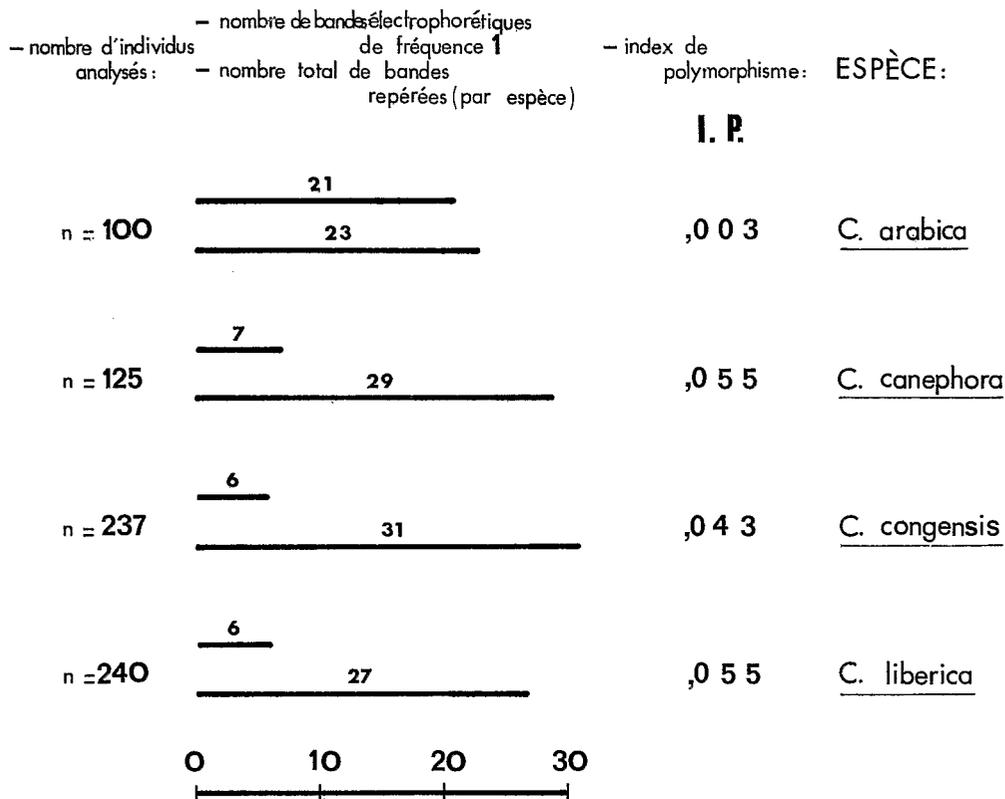


Fig. I. — Index de polymorphisme des espèces *C. arabica*, *C. canephora*, *C. congensis* et *C. liberica*

des caféiers diploïdes est lié à vingt-et-un ou vingt-deux électromorphes sur un total de vingt-sept à trente-et-un ; seules six à sept bandes électrophorétiques se retrouvent présentes uniformément dans le matériel analysé. Les vingt-et-un et vingt-deux variants électrophorétiques sont diversement répartis dans les populations et permettent d'identifier la plupart des génotypes. Au contraire, dans l'espèce *C. arabica*, vingt-et-une bandes électrophorétiques sur un total de vingt-trois sont uniformément présentes. Les deux variants Phos A. 1,05 et Phos A. 0,9 permettent de distinguer les origines Ar. 8 et Ar. 23 par l'absence de l'une et l'autre de ces bandes.

Rappelons que ces estimations de l'index de polymorphisme impliquent normalement l'existence d'une correspondance biunivoque entre bande électrophorétique et déterminant génétique, ce qui n'est pas toujours le cas (Mosse, 1973).

Une telle analyse du déterminisme génétique des bandes électrophorétiques obtenues chez les caféiers est en cours. Présentons l'exemple de la bande électrophorétique Phos A. 1,05 chez l'espèce *C. arabica* : la figure II (p. 376) montre la différence de type électrophorétique entre Ar. 8 et Ar. 36b : l'électromorphe Phos A.1,05 est présent chez Ar. 36b et absent chez Ar. 8. La descendance  $F_1$  du croisement 36b  $\times$  8 le possède. Les « back-crosses » par les géniteurs parentaux donnent les résultats suivants :

- d'une part, les quatre hybrides  $F_1$  recroisés par Ar. 8 ont pour descendance  $F_2$  cinquante individus : vingt-huit possèdent l'électromorphe considéré, vingt-deux ne le possèdent pas (figure III) ; une telle répartition s'apparente à la disjonction théorique 1 : 1 attendue dans l'hypothèse d'un déterminisme mendélien monofactoriel ;

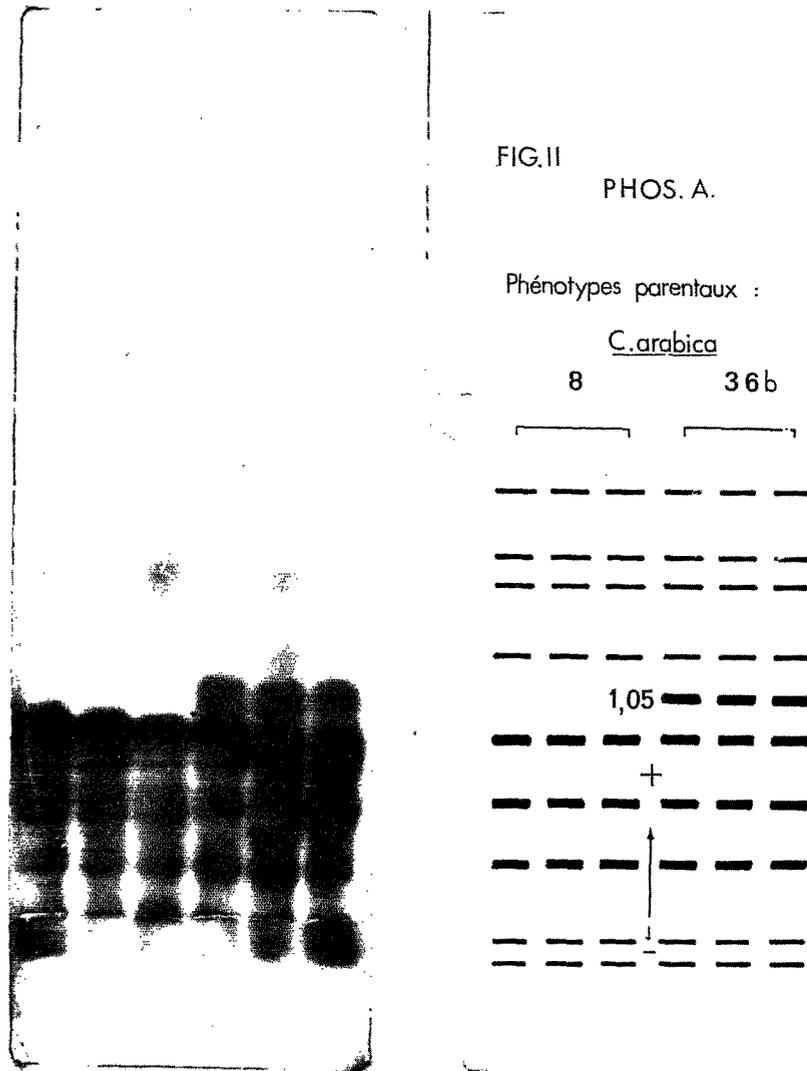


Fig. II. — Types électrophorétiques Phos. A des origines *C. arabica* Ar. 8 et Ar. 36b (électrophorégramme obtenu par analyse d'extraits de jeunes plantules)

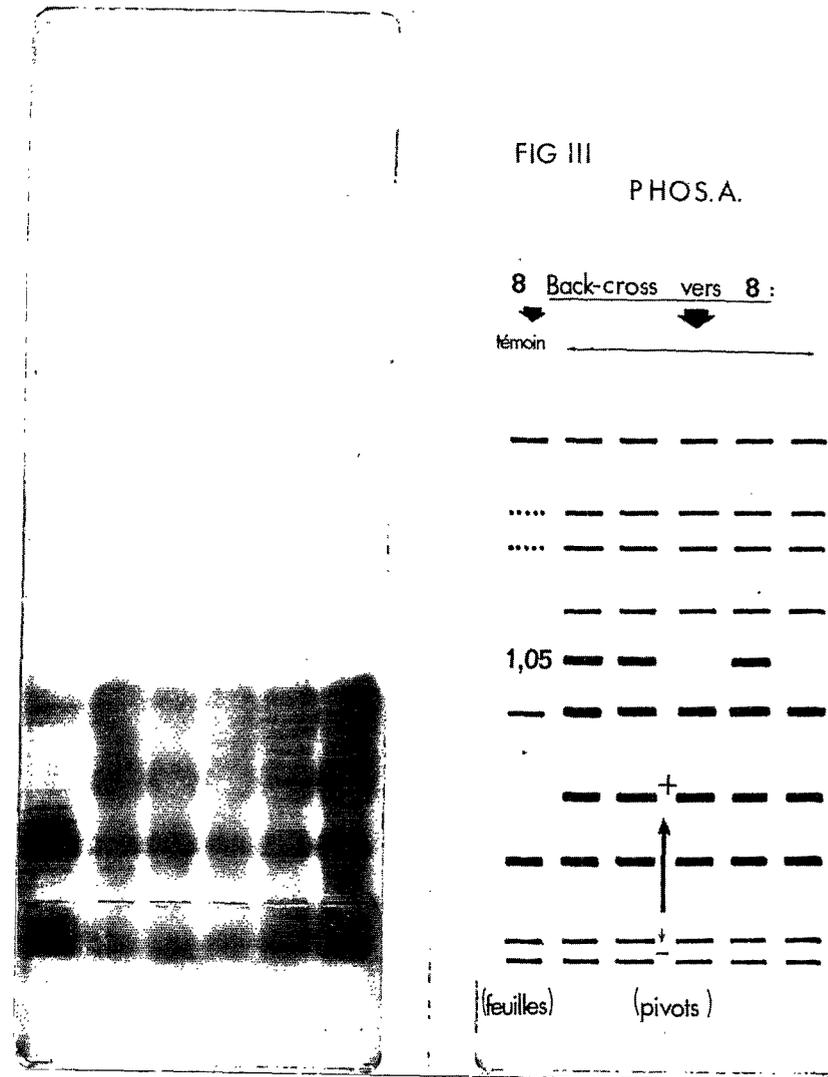


Fig. III. — Types électrophorétiques Phos. A de cinq individus ( $F_2$ ) issus du « back-cross » de l'hybride (36b x 8) vers Ar. 8 (même remarque que pour la figure II, pour tous les zymogrammes à l'exception du premier (témoin Ar. 8), obtenu par l'analyse d'extraits foliaires)

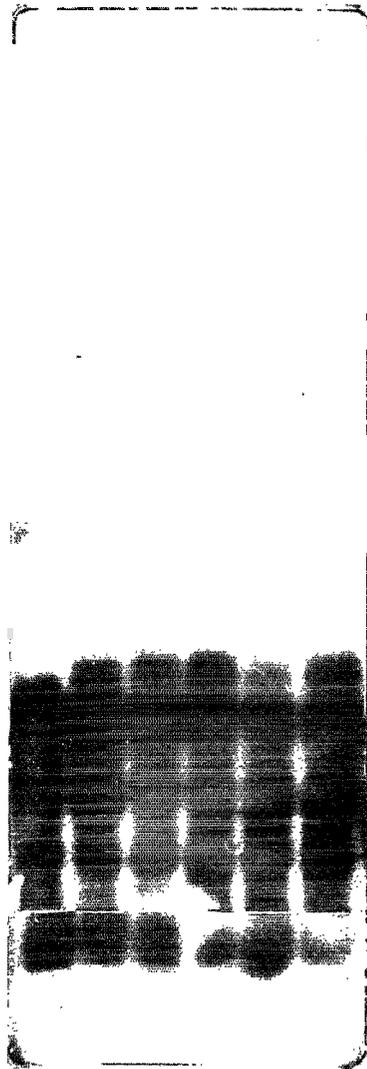


FIG IV

PHOS.A.

8 Back-cross vers 36b :

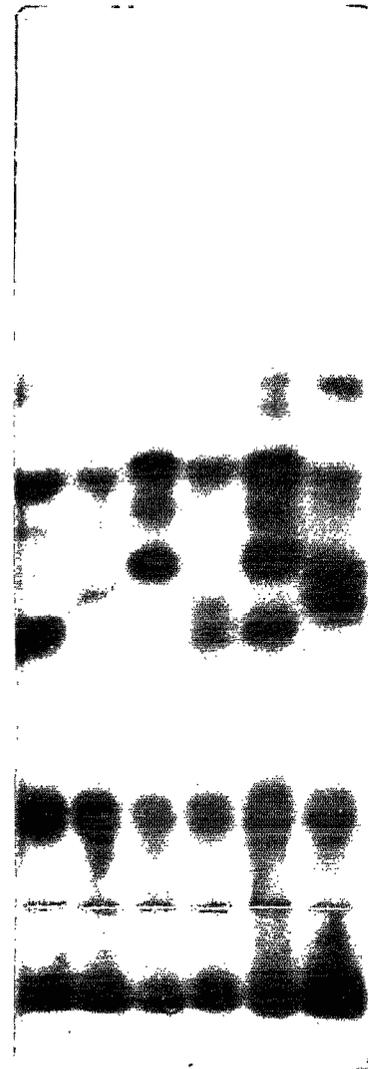
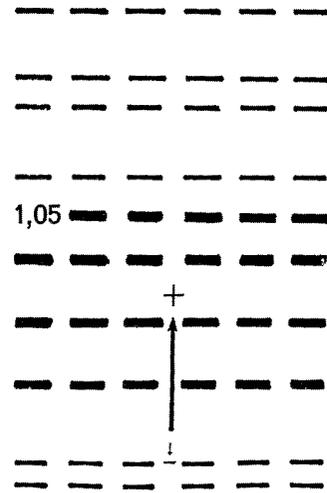


FIG V

B EST.  
(traits gras)

6 phénotypes corres. 3 allozymes:

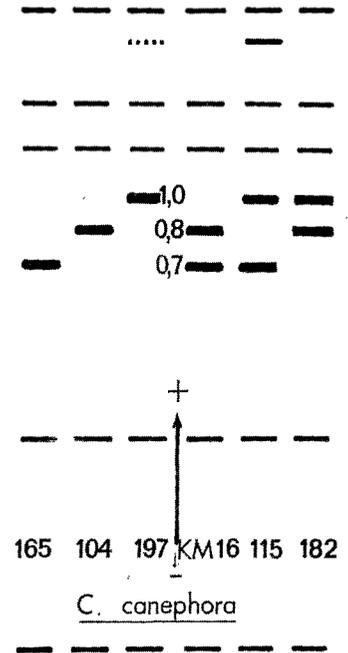


Fig. IV. — Types électrophorétiques Phos. A de cinq individus ( $F_2$ ) issus du back-cross de l'hybride ( $36b \times 8$ ) vers Ar. 36b (même remarque que pour la figure II)

Fig. V. — Types électrophorétiques de six clones *C. canephora* montrant les six types Est. B correspondant aux trois allozymes Est. B. 0,7-0,8 et 1,0 (électrophorégramme obtenu par analyse d'extraits foliaires)

— d'autre part, les deux hybrides  $F_1$  ont pour descendance  $F_2$  vingt individus qui présentent tous la bande électrophorétique considérée. L'ensemble de ces résultats démontre que l'isozyme Phos A. 1,05 est contrôlé par un gène dominant porté par l'origine Ar. 36b (figure IV, p. 377).

De telles relations d'allélisme sont aussi observées chez les espèces diploïdes et allogames. Ainsi, sur la

figure V, les phénotypes correspondant aux trois électromorphes B Est. 0,7-0,8 et 1,0 se retrouvent dans les deux espèces *C. canephora* et *C. congensis*. Une telle situation s'interprète suivant l'hypothèse d'une série de trois allozymes, contrôlés par trois allèles codominants à un même locus. Leur répartition dans les populations n'est pas significativement différente de la répartition idéale des fréquences dans l'équilibre panmictique. Il en est de même pour les allozymes Phos A. 1,4-1,5 dans l'espèce *C. liberica* (figure VI). De telles hypothèses génétiques sont en cours de vérification.

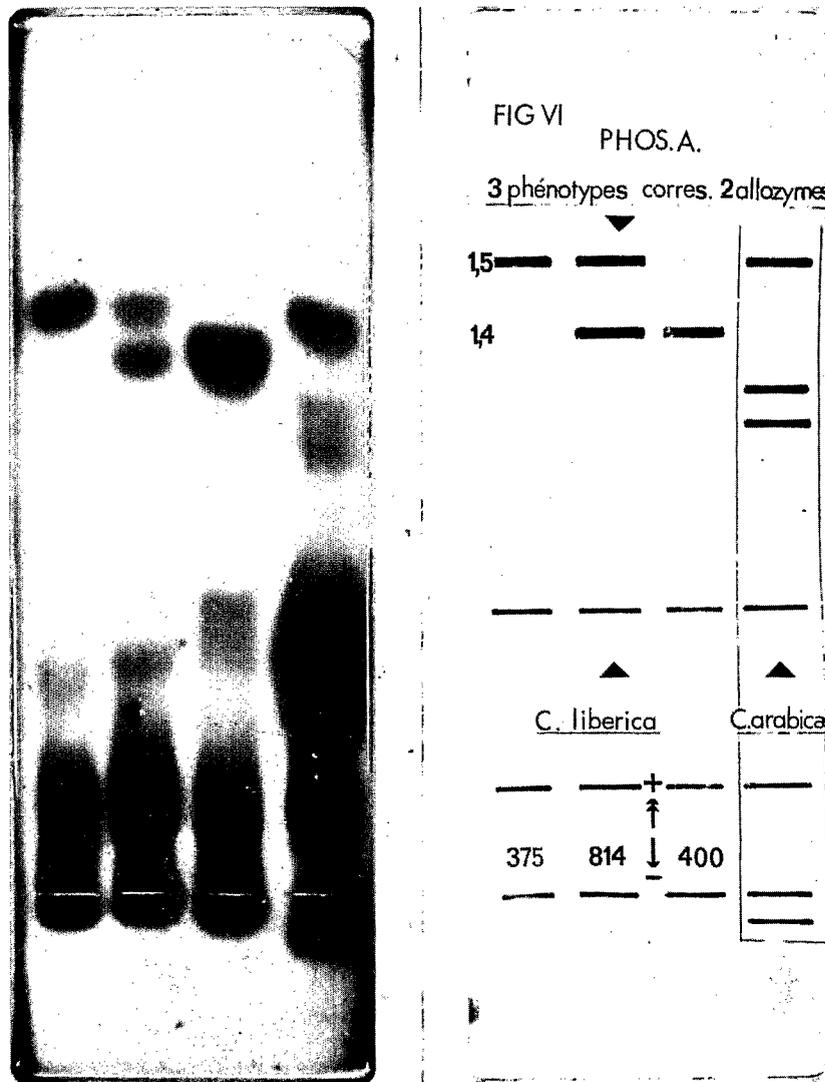


Fig. VI. — Types électrophorétiques de trois clones *C. liberica* montrant les trois types Phos. A correspondant aux deux allozymes Phos. A 1,4 et 1,5 (même remarque que pour la figure V)

## ANALYSE DES AFFINITÉS ENZYMATIQUES ENTRE LES PRINCIPALES ESPÈCES DE CAFÉIERS AFRICAINS

Cette étude des affinités interspécifiques concerne les quatre espèces précédemment utilisées auxquelles nous avons ajouté *C. eugenioides* et une espèce affine des *Coffea*, *Paracoffea ebracteolata*, représentées l'une et l'autre par trente-six individus. La première a été collectée dans les populations naturelles du Kenya et la seconde provient du massif Dan-Guéoulé en Côte d'Ivoire.

L'affinité de deux espèces  $x$  et  $y$  peut être estimée d'après la formule utilisée pour le calcul de l'identité génétique de Nei (1970), où  $x_i$  et  $y_i$  désignent le plus souvent les fréquences des allèles contrôlant des allozymes :

$$I = \frac{\sum x_i y_i}{\sqrt{\sum x_i^2 \cdot \sum y_i^2}}$$

Pour calculer l'index d'affinité (I.A.) nous avons utilisé en première approximation les fréquences  $x_i$  et  $y_i$  des bandes électrophorétiques des espèces étudiées (Annexe A, p. 382).

Les valeurs des index d'affinité présentés dans la figure VII permettent de dégager les informations suivantes :

1. les espèces *C. canephora* et *C. congensis* paraissent très proches et la valeur de l'index (I.A. = 0,88) est voisine de celle que l'on obtient entre populations au

sein d'une même espèce. Observons que vingt-quatre des trente-sept électromorphes séparés sont communs aux deux espèces (Annexe A).

2. entre les espèces diploïdes *C. canephora*, *C. liberica* et *C. eugenioides* les index d'affinité se situent à un niveau inférieur et sensiblement équivalent (I.A. = 0,63 à 0,77). Par exemple *C. canephora* et *C. liberica* n'ont plus en commun que dix-sept des quarante électromorphes séparés.
3. des valeurs d'index nettement plus faibles caractérisent les affinités entre *Paracoffea ebracteolata* et les principales espèces du genre *Coffea*, y compris *C. arabica* (I.A. = 0,37 à 0,47).
4. l'index d'affinité de l'espèce tétraploïde *C. arabica* vis-à-vis des quatre espèces de *Coffea* est pratiquement constant (I.A. = 0,67 à 0,68). Il ressort de l'examen des électrophorogrammes Phos. A et Est. A et B que l'ensemble des bandes électrophorétiques de *C. arabica* apparaît comme la somme des bandes complémentaires les plus fréquentes dans l'espèce *C. eugenioides* d'une part et dans le groupe *C. canephora*, *C. congensis*, d'autre part (figures VIII et IX). Ainsi la richesse en formes enzymatiques de l'espèce tétraploïde proviendrait de la juxtaposition des formes les plus caractéristiques de ces deux groupes de caféiers africains diploïdes.

FIGURE VII : Index d'affinité en électrophorèse.

$$I.A. = \frac{\sum x y}{\sqrt{\sum x^2 \sum y^2}} \quad x, y \text{ désignent les fréquences des bandes électrophorétiques dans chacune des espèces.}$$

<u>C. congensis</u> effectifs: 236	<u>C. liberica</u> 240	<u>C. eugenioides</u> 36	<u>C. arabica</u> 100	<u>Paracoffea</u> <u>ebracteolata</u> 36	
,88	,70	,64	,68	,39	<u>C. canephora</u> 125
1	,70	,63	,67	,37	<u>C. congensis</u>
	1	,77	,67	,37	<u>C. liberica</u>
		1	,67	,47	<u>C. eugenioides</u>
			1	,41	<u>C. arabica</u>

Fig. VII. — Index d'affinité entre cinq espèces du genre *Coffea* et *Paracoffea ebracteolata*.



FIG VIII

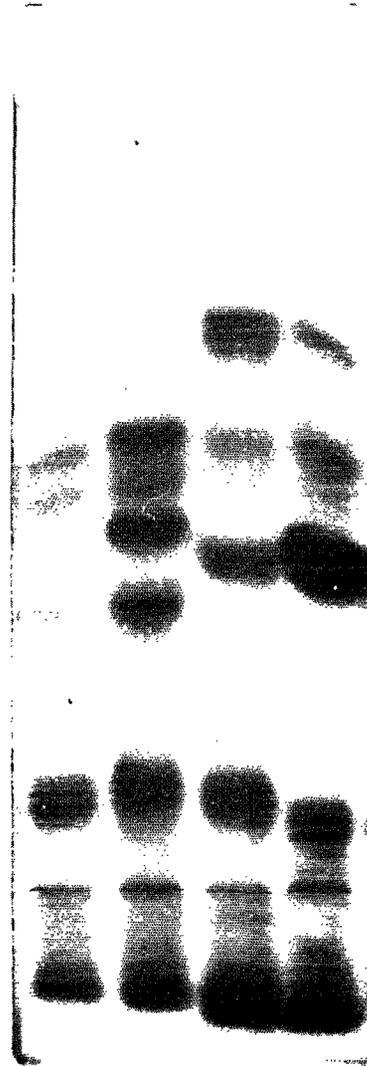
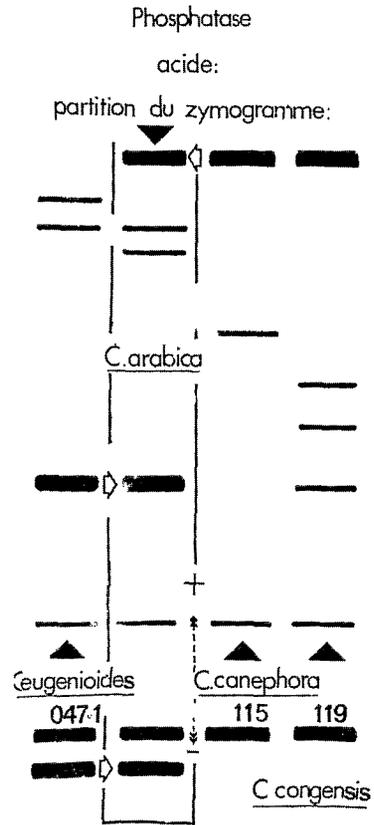


FIG IX

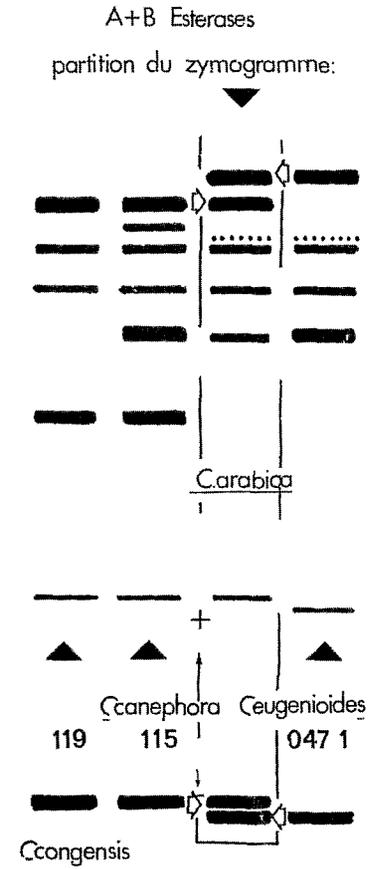


Fig. VIII. — Types électrophorétiques Phos. A de quatre espèces *C. eugenioides*, *C. arabica*, *C. canephora* et *C. congensis* (même remarque que pour la figure V)

Fig. IX. — Types électrophorétiques Est. A et B de quatre espèces *C. congensis*, *C. canephora*, *C. arabica* et *C. eugenioides* (même remarque que pour la figure V)

## DISCUSSION-CONCLUSION

La méthode d'électrophorèse en série que nous avons mise au point permet de révéler les bandes électrophorétiques des enzymes Phos. A, Mdh et Est. A et B extraites de jeunes feuilles en croissance ou de jeunes plantules de caféiers. Cette technique est valable pour d'autres organes de la plante (bourgeons végétatifs, pollens) ; elle a déjà permis de caractériser une douzaine d'espèces de caféiers variés. Il serait maintenant souhaitable d'étendre cette méthode à d'autres enzymes.

Les premiers résultats d'analyse du polymorphisme électrophorétique que nous présentons démontrent bien l'intérêt de cette méthode d'étude de la variabilité et de la structure génétique des espèces du genre *Coffea*. Ainsi les indices de polymorphisme calculés caractérisent bien les différences fondamentales de variabilité d'une espèce autogame (*C. arabica*) par rapport aux espèces allogames (*C. congensis*, *C. canephora* et *C. liberica*). Nous avons aussi envisagé les possibilités d'analyse du polymorphisme électrophorétique inter et intrapopulation de quelques espèces spontanées (Berthaud et Berthou, 1977). De telles études de génétique nécessitent que nous développiions l'analyse du déterminisme des bandes électrophoréti-

ques. L'étude de l'isozyme Phos. A 1,05 chez *C. arabica* illustre la situation génétique la plus simple que nous avons rencontrée.

Notre estimation des affinités électrophorétiques des espèces de caféiers fournissent des informations qui sont en accord avec les hypothèses les plus récentes sur la structure génétique du genre *Coffea* (Charrier, 1977). C'est ainsi que se trouvent confirmées :

- la proximité des espèces *C. canephora* et *C. congensis*,
- l'existence d'affinités équivalentes entre les trois principaux sous-ensembles de caféiers diploïdes d'Afrique (*Eucoffea*),
- l'équivalence de ces derniers dans leurs rapports avec *C. arabica*.

L'hypothèse sur la synthèse de l'amphidiploïde naturel *C. arabica* à partir de deux *Coffeae* diploïdes se trouve confortée par la présence chez *C. arabica* de caractères électrophorétiques complémentaires des espèces diploïdes : *C. congensis*, *C. canephora* d'une part et *C. eugenioides* de l'autre.

Enfin les caractères électrophorétiques de *Paracoffea ebracteolata* tendent à montrer une séparation nette avec les *Coffeae* y compris *C. arabica*.

## BIBLIOGRAPHIE

1. A.A. ANDERSEN, J.A. SOWER, 1968. — Optimum conditions for bounding of plant phenols to insoluble polyvinylpyrrolidone. *Phytochemistry* (Oxford), vol. 7, p. 293-301.
2. J. BERTHAUD, F. BERTHOU, 1977. — Analyse de la variabilité des populations naturelles de caféiers diploïdes (*Coffea* sp). Observations sur les teneurs en caféine et sur le polymorphisme enzymatique. 8<sup>e</sup> Coll. Scientifique International sur le Café (Abidjan) 28 nov.-3 déc., ASIC (Paris), 1979, p. 385-391.
3. G.J. BREWER, 1970. — An introduction to isozyme techniques, 1 vol., Acad. Press, New York.
4. A. CHARRIER, 1977. — La structure génétique du genre *Coffea* ; ses conséquences pour l'amélioration des caféiers cultivés. 8<sup>e</sup> Coll. Scientifique International sur le Café, Abidjan, 28 nov.-3 déc., ASIC (Paris), 1979, p. 399-405.
5. M.E.M. GUEDES, J.R. RODRIGUES, 1974. — Disc electrophoretic patterns of phenoloxidase from leaves of *Coffea* cultivar. *Portugaliae Actae Biologia* (Lisbonne), Série A, vol. XIII.
6. M. LAMOTTE, 1974. — Le polymorphisme dans le règne animal. Mémoire de la société zoologique de France, n° 37, Paris.
7. W.D. LOOMIS, J. BATAILLE, 1966. — Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. *Phytochemistry* (Oxford), vol. 5, p. 423-438.
8. J. MOSSÉ, 1973. — Hétérogénéité et polymorphisme des protéines et isoenzymes végétales : aspects moléculaires et évolutifs. *Physiologie végétale* (Paris), vol. 11, n° 2, p. 361-384.
9. D.R. MARSCHALL, R.W. ALLARD, 1970. — Isoenzyme polymorphisms in natural populations of *Avena fatua* et *Avena barbata*. *Heredity* (Edinburgh), 25, p. 373-382.
10. M. NEI, 1972. — Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* (Lancaster), vol. 106, p. 283.
11. R.C. PAYNE, D.E. FAIRBROTHERS, 1976. — Disc electrophoretic evidence for heterozygosity and phenotypic plasticity in selected lines of *Coffea arabica* L. *Bot. Gaz.* (Chicago), vol. 137, n° 1, p. 1-6.
12. C.R. SHAW, R. PRASAD, 1970. — Starch gel electrophoresis of enzymes : a compilation of recipes. *Biochemical Genetics* (New York), 4, p. 297-320.
13. I. SMITH, 1968. — Electrophoretic techniques.

Annexe A. — Fréquence des bandes électrophorétiques de cinq espèces du genre *Coffea* et de *Paracoffea ebracteolata*

Electromorphes	Espèces et effectifs					
	<u>C. canephora</u> 125	<u>C. congensis</u> 237	<u>C. liberica</u> 240	<u>C. eugenioides</u> 36	<u>C. arabica</u> 100	<u>P. ebracteolata</u> 36
<u>Phosphatase Acide</u>						
1,55	0,144					
1,50	0,991	0,966	0,187		1,000	0,278
1,47			0,421			
1,45		0,101				0,250
1,42			0,621			
1,40				0,640		0,111
1,35				0,143	1,000	0,361
1,32		0,038	0,300	0,217		
1,30					1,000	0,444
1,25	0,216					0,056
1,22	0,952					
1,20						0,139
1,15						1,000
1,10	0,256	0,987				
1,05					0,900	
1,00		0,008	0,886	0,970	1,000	
0,97	0,496	0,992				
0,95		0,013				
0,90					0,950	
0,72	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
0,67	1,000	1,000			1,000	
-0,50	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
-1,00				1,000	1,000	1,000
<u>Malate Déhydrogénase</u>						
1,40		0,075				
1,35		0,025				
1,30	0,008	0,198	0,034			
1,25		0,114	0,194			
1,20	0,272	0,895	0,979	1,000	1,000	
1,15	0,040	0,346	0,042		1,000	
1,10	1,000	0,928	1,000	1,000	1,000	
1,07						1,000
1,05	0,040	0,207	0,069		1,000	
1,00	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
0,95			0,042			
0,92						1,000
0,90	0,428		0,042			
0,80	0,068					
0,60	0,051					
<u>Estérases A et B</u>						
1,65			0,479	0,273	1,000	
1,60	0,896	0,945	0,712	0,666	1,000	
1,55	0,184	0,084				0,021
1,50						0,055
1,45				0,394		0,500
1,40	0,896	0,831	0,954	0,485	1,000	0,038
1,35	0,136	0,169		0,212		0,500
1,30						0,225
1,25			0,762			
1,20	0,432	0,211		0,300	1,000	0,500
1,15						0,830
1,10	0,040	0,034	0,046			1,000
1,05			0,375			0,250
1,00	0,760	0,224	0,321	0,457	1,000	
0,95				0,833		
0,90			0,696	0,014		
0,80	0,224	0,219	0,029			0,222
0,70	0,304	0,848				
0,65	0,008	0,008				
0,20	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
0,10						0,330
-0,20						0,750
-0,40						0,277
-0,60						0,472
-0,80	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,055
-1,00				1,000	1,000	0,083

BERTHOU (F.), TROUSLOT (P.). — L'analyse du polymorphisme enzymatique dans le genre *Coffea* : adaptation d'une méthode d'électrophorèse en série ; premiers résultats. VIII<sup>e</sup> Colloque Scientifique International sur le Café, Abidjan, 28 nov.-3 déc. 1977. ASIC (Paris) 1979, p. 373-383, fig., réf.

Depuis une dizaine d'années, l'analyse du polymorphisme biochimique chez les organismes vivants est en développement constant. En adaptant une méthode d'électrophorèse en série, nous cherchons à établir dans le genre *Coffea* des systèmes de groupes isoenzymatiques sur la base de caractères qualitatifs à déterminisme génétique simple.

Chez les caféiers, les substances du métabolisme secondaire, alcaloïdes et tannins, font obstacle à l'analyse enzymatique. La combinaison de deux techniques déjà connues, l'extraction en milieu acide et l'électrophorèse sur gel d'amidon en présence de polyvinylpyrrolidone insoluble (P.V.P.), nous permet d'analyser la plupart des caféiers sur trois enzymes : Phosphatase acide (**Phos. A**), Malate déshydrogénase (**Mdh**), Estérase (**Est**).

L'intérêt de la technique pour mettre en évidence des caractères génétiques simples est illustrée par l'analyse de l'allozyme **Phos. A 1,05** dans l'espèce *C. arabica*. Quatre espèces diploïdes et allogames — *C. canephora*, *C. congensis*, *C. liberica* et *C. eugenioides* sont caractérisées par leurs fréquences isoenzymatiques. Les deux premières ont plus d'affinités enzymatiques entre elles qu'elles n'en ont avec les autres. Vis-à-vis de l'espèce *C. arabica*, les taxons *C. canephora*, *C. congensis*, d'une part, et *C. eugenioides* d'autre part ont des affinités qui impliquent des isozymes différents. Ces deux groupes sont complémentaires pour la reconstitution des zymogrammes **Phos. A** et **Est** de l'espèce *C. arabica*.

BERTHOU (F.), TROUSLOT (P.). — Analysis of enzymatic polymorphism in the genus *Coffea* : adaptation of an electrophoresis method in series : first results. VIII<sup>e</sup> Colloque Scientifique International sur le Café, Abidjan, 28 nov.-3 déc. 1977. ASIC (Paris), 1979, p. 373-383, fig., réf.

Investigation of biochemical polymorphism in living organisms has been increasing constantly over the last ten years. By adapting a method of electrophoresis in series, the authors sought to identify systems of isoenzymatic groups in the genus *Coffea* on the basis of qualitative characters of simple genetic determinism.

In coffee trees, the secondary metabolism substances, alkaloids and tanins, are obstacles in the way of enzymatic analysis. A combination of two already known techniques, extraction in acid medium and electrophoresis on starch gel in the presence of insoluble polyvinyl-pyrrolidone (P.V.P.) enabled the authors to determine three enzymes in most of the coffee trees : acid Phosphatase (**Phos. A**), dehydrogenase Malate (**Mdh**), and Esterase (**Est**).

The interest of the technique to reveal simple genetic characters is illustrated by the determination of allozyme **Phos. A 1.05** in the species *C. arabica*. Four diploid, allogamous species — *C. canephora*, *C. congensis*, *C. liberica* and *C. eugenioides* — were found to be characterised by their isoenzymatic frequencies. The first two have greater enzymatic affinities with one another than with others. As regards the species *C. arabica*, the taxa *C. canephora*, *C. congensis* on the one hand, and *C. eugenioides* on the other hand have affinities which involve different isozymes. These two groups are complementary in the reconstitution of the zymogrammes **Phos. A** and **Est** of the species *C. arabica*.