

Introduction à l'étude génétique des *Mascarocoffea* : nouvelles déterminations de leurs nombres chromosomiques

J. LOUARN

Opération conjointe IFCC-ORSTOM

IFCC, Station centrale du café
Ilaka-Est, Madagascar

ORSTOM
Tananarive, Madagascar

CHEVALIER (1947) a regroupé les caféiers sylvestres de Madagascar, des Comores et des îles Mascareignes dans la section des *Mascarocoffea* en se basant essentiellement sur l'absence de caféine dans leurs graines. Ce caractère original paraît intéressant à exploiter dans les recherches caféières en vue de créer de nouveaux types de caféiers cultivables dont l'albumen serait naturellement dépourvu de cet alcaloïde (COSTE, 1966). Dans ce but, une opération conjointe entre l'IFCC et l'ORSTOM a été lancée en 1968 pour réaliser l'étude biologique et génétique des *Mascarocoffea*.

Compte tenu de la grande variabilité phénotypique que présente ce groupe de caféiers (CHEVALIER, 1947 ; LEROY, 1961, 1962 et 1972 ; PORTÈRES, 1962 ; GUILLAUMET, 1969), il n'était pas déraisonnable de penser qu'il pouvait exister une variation au niveau de leurs nombres chromosomiques.

Bien que les précédents travaux de dénombrement aient tous abouti au nombre diploïde du genre ($2n = 22$ chromosomes) (LEROY et PLU, 1966 ; PORTÈRES, 1962), nous devons nous assurer des nombres chromosomiques des espèces nouvellement prospectées avant d'entreprendre leur étude sur le plan génétique : transmission des caractères lors de croisements intra- et interspécifiques, parenté entre les espèces...

Nous présentons dans cette note :

- une méthode originale de dénombrement chromosomique, la coloration étant assurée à froid, sans hydrolyse préalable, par un colorant à base d'hématoxyline alunée ;
- les résultats de nos dénombrements originaux concernant 22 espèces de *Mascarocoffea* récemment décrites.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Matériel végétal

Les caféiers étudiés proviennent des prospections entreprises depuis 1960 par les Professeurs J. F. LEROY et R. PORTÈRES (Muséum d'Histoire Naturelle, Paris) ainsi que par J. VIANNEY-LIAUD (IFCC, Kianjavato) et J. L. GUILLAUMET (ORSTOM, Tananarive).

Rassemblées par peuplements, les différentes espèces sont domestiquées et mises en collection dans les stations IFCC de Kianjavato puis d'Ilaka-Est où elles font l'objet de multiplications intensives.

Les comptages effectués portent sur quarante-six peuplements appartenant à trente espèces de *Mascarocoffea*; vingt-deux d'entre elles sont dénombrées pour la première fois.

Méthode

Les dénombrements chromosomiques sont réalisés sur écrasements de pointes radiculaires issues de boutures ou de la germination de graines; dans la mesure du possible, ils portent sur cinq individus par peuplement et, dans quelques cas, sur plusieurs peuplements par espèce.

L'application des techniques classiques de dénombrement, basées sur les colorations par le carmin acéto-ferrique ou par la méthode de Feulgen, s'est révélée particulièrement décevante dans les conditions tropicales du laboratoire (température variant de 25 à 32 °C, pour 50 à 90 % d'humidité relative); aussi avons-nous mis au

point une technique de coloration que nous présentons ci-dessous.

Les jeunes racines sont prélevées et immergées dans une solution de sulfate de magnésium à 0,05 % saturée d' α chloronaphtalène (ESSAD, communication personnelle), durant 2 h 30 mn à 4 °C. Elles subissent ensuite une fixation à l'alcool acétique (3 : 1) durant au moins 24 h, à 4 °C.

Le colorant employé est un mélange de 10 volumes d'hématoxyline à 2 % dans l'acide acétique à 45 %, plus un volume d'alun ferrique à 0,5 % dans l'acide acétique à 45 %. Le mélange est laissé 15 jours à l'air libre; après évaporation d'un tiers du liquide, le filtrat est utilisé comme colorant.

La coloration est assurée à la température ambiante, sans hydrolyse préalable, par un bain dans le colorant de 20 à 40 mn selon les espèces.

L'écrasement et le montage des apex radiculaires sont effectués dans le colorant entre lame et lamelle. Un chauffage rapide sur lampe à alcool permet la bonne différenciation des chromosomes. Ces derniers sont dénombrés dans des cellules parvenues aux stades de fin de prophase ou métaphase de la mitose (fig. 1 et 2).

Malgré l'hétérogénéité du matériel étudié, la technique ci-dessus nous donne entière satisfaction :

- rapide et d'exécution facile, elle ne nécessite pas d'hydrolyse préalable;
- la macération dans le colorant permet, lors du tapotement entre lame et lamelle, un étalement correct du méristème en couche monocellulaire;
- la coloration n'affecte pas la structure des chromosomes, les constriction primaires et secondaires sont généralement bien différenciées.

Fig. 1. — Chromosomes mitotiques de *C. sahafaryensis* en fin de prophase (2.000 \times)

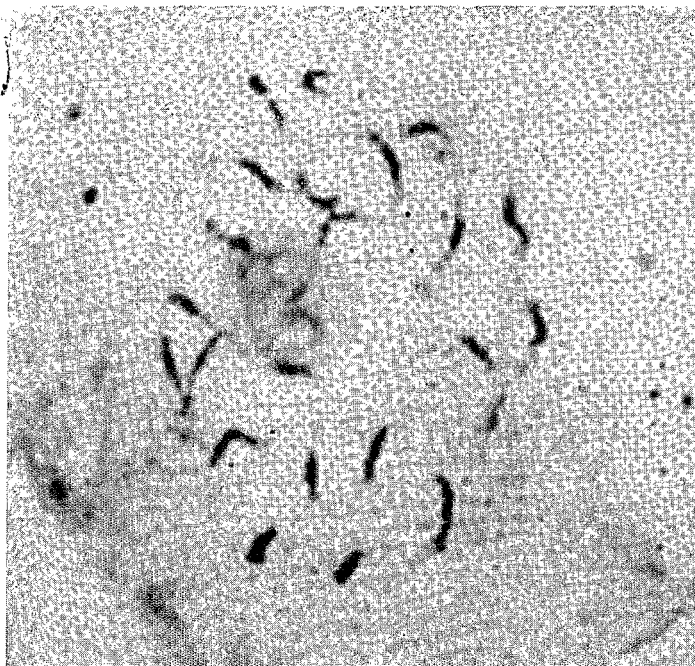
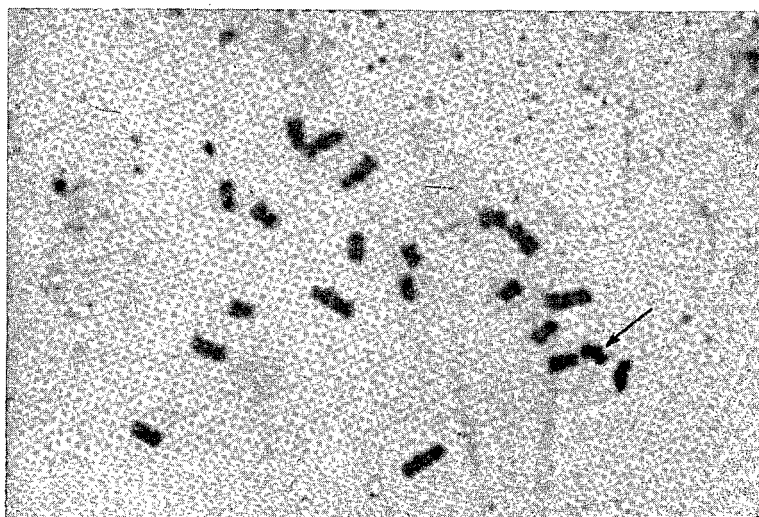


Fig. 2. — Chromosomes mitotiques de *C. homollei* en métaphase (1.800 \times). La flèche indique la position de deux petits chromosomes superposés



RÉSULTATS

Les nombres chromosomiques des vingt-deux nouvelles espèces étudiées sont rassemblés dans le tableau I ; elles sont toutes à $2n = 22$ chromosomes.

Nous avons en outre vérifié le niveau diploïde des espèces suivantes (LEROY et PLU, 1966 ; PORTÈRES,

1962) : *C. bertrandi* (peuplement A.5), *C. dolichophylla* (A.206), *C. humblotiana* (A.230, A.1022), *C. mangoroensis* (A.18, A.53), *C. mauritiana* (A.1024, A.1025, A.1026), *C. millotii* (A.219, A.222), *C. resinosa* (A.8) et *C. vianneyi* (A.20).

TABLEAU I

Nombres chromosomiques des caféiers sylvestres malgaches

Espèces	Numéros de peuplement	Nombres de chromosomes	Origines
<i>C. abbayesii</i> J. F. Ler.	A. 601	2 n = 22	Fort-Dauphin
<i>C. andrambovatensis</i> J. F. Ler.	A. 227	2 n = 22	Fort-Carnot
<i>C. arenesiana</i> J. F. Ler.	A. 403	2 n = 22	Moramanga
<i>C. boiviniana</i> (Bn) Drake	A. 523	2 n = 22	Diégo-Suarez
<i>C. bonnierii</i> Dubard	A. 535	2 n = 22	Montagne d'Ambre
<i>C. commersoniana</i> A. Chev.	A. 302	2 n = 22	Fort-Dauphin
<i>C. coursiana</i> J. F. Ler.	A. 570	2 n = 22	Tamatave
<i>C. dubardi</i> Jumelle	A. 36	2 n = 22	Montagne d'Ambre
	A. 68		
	A. 94		
<i>C. farafanganensis</i> J. F. Ler.	A. 208	2 n = 22	Farafangana
<i>C. heimii</i> J. F. Ler.	A. 516	2 n = 22	Diégo-Suarez
<i>C. homollei</i> J. F. Ler.	A. 574	2 n = 22	Tamatave
	A. 743		
<i>C. kianjavatensis</i> J. F. Ler.	A. 213	2 n = 22	Kianjavato
	A. 320		
<i>C. lancifolia</i> A. Chev. subsp. <i>auriculata</i> J. F. Ler.	A. 405	2 n = 22	Fort-Carnot
<i>C. mogeneti</i> Dubard	A. 40	2 n = 22	Montagne d'Ambre
	A. 12		
<i>C. perrieri</i> Drake ex Jaarb	A. 305	2 n = 22	Fort-Dauphin
	A. 421		
	A. 540		
<i>C. pervilleana</i> (Bn) Drake	A. 150	2 n = 22	Nossi-Bé
<i>C. richardii</i> J. F. Ler.	A. 538	2 n = 22	Fénérive
<i>C. sahafaryensis</i> J. F. Ler.	A. 316	2 n = 22	Diégo-Suarez
<i>C. sakarahae</i> J. F. Ler.	A. 252	2 n = 22	Ambositra
<i>C. tetragona</i> Jumelle et Perrier	A. 515	2 n = 22	Diégo-Suarez
<i>C. tsirananae</i> J. F. Ler.	A. 205	2 n = 22	Cap d'Ambre
<i>C. vatovavyensis</i> J. F. Ler.	A. 308		
<i>C. sp.</i> A. 311 (1)	A. 311	2 n = 22	Kianjavato
<i>C. sp.</i> A. 315 (1)	A. 315	2 n = 22	Vondrozo
<i>C. sp.</i> A. 317 (1)	A. 317	2 n = 22	Fort-Carnot
<i>C. sp.</i> A. 518 (1)	A. 518	2 n = 22	Ifanadiana
			Ranomafana
			Montagne d'Ambre

(1) Taxons dont le niveau n'a pu encore être précisé.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les trente-quatre espèces de *Mascarocoffea* étudiées ont toutes 22 chromosomes somatiques, il en va de même pour les espèces africaines de *Coffea*, à l'exception du *C. arabica* qui est à $2n = 44$. Cette quasi homogénéité des nombres chromosomiques nous permet de suggérer que la différenciation des espèces à l'intérieur du genre *Coffea* a dû surtout être le fait de variations qualitatives successives, à partir d'un génome de base. Une telle situation des nombres chromosomiques dans le genre *Coffea* correspond bien à celle que l'on rencontre dans la famille des Rubiacées où 55,9 % des genres sont strictement de base $x = 11$ et 8,5 % des genres contiennent des espèces qui le présentent (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

Lors de l'utilisation des *Mascarocoffea* dans des croisements interspécifiques, les barrières de stérilité correspondant à des différences de niveau de ploïdie ne seront donc en cause que dans les combinaisons avec le *C. arabica*; dans tous les autres cas, nous devons prévoir, pour les hybrides, des stérilités gamétophytiques de type « chromosomique » ou « génique ».

Les clichés sont de J. Louarn.

En ce qui concerne les croisements avec le *C. arabica*, nous voyons ici la nécessité de doubler le nombre chromosomique de quelques espèces de *Mascarocoffea* intéressantes par leurs caractères biologiques et agronomiques, pour obtenir des populations hybrides du type « Arabusta » (CAPOT, 1972) qui sont issues des croisements entre *C. arabica* et *C. canephora* tétraploïde.

En conclusion, cette étude nous a permis de :

1° mettre au point une technique simple et rapide de coloration des chromosomes en mitose qui sera particulièrement utilisée pour déterminer les nombres chromosomiques des hybrides interspécifiques et de leurs descendances ;

2° préciser l'une des deux données fondamentales qui introduisent l'étude génétique d'un groupe d'espèces : leur biologie florale et leur nombre chromosomique. Les dénombrements mettent en évidence une homogénéité totale des *Mascarocoffea* qui possèdent tous 22 chromosomes somatiques ; malgré cette absence de variation, le dénombrement systématique dans les peuplements nouvellement prospectés sera poursuivi.

BIBLIOGRAPHIE

- CAPOT (J.), 1972. — L'amélioration du caféier en Côte d'Ivoire. Les hybrides « Arabusta ». *Café Cacao Thé* (Paris), XVI, n° 1, p. 3-18.
- CHEVALIER (A.), 1947. — Les caféiers du globe, fasc. III. Systématique des caféiers et faux caféiers. Maladies et insectes nuisibles. Paul LECHEVALIER (Paris), 356 p.
- COSTE (R.), 1966. — Les caféiers sylvestres de Madagascar. *Café Cacao Thé* (Paris), X, n° 3, p. 207-208.
- DARLINGTON (C. D.), WYLIE (A. P.), 1955. — Chromosome atlas of flowering plants. 2^e édition. George ALLEN & UNWIN LTD.
- GUILLAUMET (J. L.), 1969. — Etude de la structure et de la variabilité du genre *Coffea*. Rapport dactylographié, 18 p.
- LEROY (J. F.), 1961. — *Coffea novae madagascariensis*. *J. Agric. trop. Bot. appl.*, VIII, p. 1-20.
- LEROY (J. F.), 1961. — Sur les trois caféiers endémiques de l'archipel des Mascareignes. *J. Agric. trop. Bot. appl.*, VIII, p. 21-29.
- LEROY (J. F.), 1962. — Prospection des caféiers sauvages : rapport préliminaire sur une mission scientifique à Madagascar et aux îles Mascareignes (27 avril-15 juillet 1962). *J. Agric. trop. Bot. appl.*, IX, p. 211-244.
- LEROY (J. F.), 1962. — *Coffea novae Madagascariensis et Mauritiاناe*. *J. Agric. trop. Bot. appl.*, IX, p. 525-531.
- LEROY (J. F.), 1972. — Prospection des caféiers sauvages de Madagascar : deux espèces remarquables (*Coffea tsirananae* n. sp., *C. kianjavatensis* n. sp.). *Adansonia*, sér. 2, XII, p. 317-328.
- LEROY (J. F.), PLU (A.), 1966. — Sur les nombres chromosomiques des *Coffea* malgaches. *Café Cacao Thé* (Paris), X, n° 3, p. 216-218.
- PORTÈRES (R.), 1962. — Sur quelques caféiers sauvages de Madagascar. *J. Agric. trop. Bot. appl.*, IX, p. 29-41.

LOUARN (J.). — **Introduction à l'étude génétique des *Mascarocoffea* : nouvelles déterminations de leurs nombres chromosomiques.** *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVI, n° 4, oct.-déc. 1972, p. 312-316, fig., tabl., réf.

L'auteur présente une étude génétique de la section des *Mascarocoffea*, caféiers sylvestres de Madagascar, des Comores et des îles Mascareignes et dont les graines sont caractérisées par un albumen dépourvu de caféine.

Les espèces de caféiers étudiées proviennent de collections obtenues à partir de peuplements indigènes et multipliées dans les stations IFCC de Kianjavato et d'Illaka-Est (Madagascar).

Dans cette note sont présentés :

1° une méthode simple et rapide de dénombrement des chromosomes en mitose du genre *Coffea* : la coloration est assurée à froid, sans hydrolyse préalable, par un colorant à base d'hématoxyline alunée ;

2° les dénombrements chromosomiques de trente-quatre espèces de *Mascarocoffea*, dont vingt-deux espèces nouvellement prospectées et décrites. Les *Mascarocoffea* possèdent tous $2n = 22$ chromosomes somatiques.

Les possibilités de croisements interspécifiques qui permettraient d'exploiter les caractères biologiques et agronomiques intéressants de ces caféiers sont envisagées.

LOUARN (J.). — **Einführung in das genetische Studium der *Mascarocoffea* : neue Festsetzung ihrer Chromosomenzahl.** *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVI, n° 4, oct.-déc. 1972, p. 312-316, fig., tabl., réf.

Genetische Untersuchung der Abteilung der *Mascarocoffea*, Waldkaffeesträucher aus Madagascar, den Komoren und den Inseln Mascarenen, deren Bohnen durch ein koffeinfreies Sameneiweiss gekennzeichnet sind, wird erörtert.

Die untersuchten Arten von Kaffeesträuchern rührten von Sammlungen her, die aus einheimische Populationen erzielt wurden und in den IFCC Stationen von Kianjavato und Illaka-Est (Madagaskar) vermehrt wurden.

Erörtert werden in vorliegender Arbeit :

1) eine einfache und schnelle Zählungsmethode der Chromosome in Mitose der Gattung *Coffea* : die Färbung wird auf kaltem Wege ohne vorherige Hydrolyse mittels eines auf alantem Hematoxylin beruhenden Farbstoffes gewährleistet ;

2) die chromosomische Zählung von vier und dreissig Arten von *Mascarocoffea* darunter zwei und zwanzig neu erschlossene und beschriebene Arten. Alle *Mascarocoffea* weisen $2n = 22$ somatische Chromosome auf.

Die Möglichkeiten von Artkreuzungen, welche die Auswertung der interessanten biologischen und agronomischen Eigenschaften dieser Kaffeesträucher erlauben würden, werden untersucht.

LOUARN (J.). — **Introduction to the genetic study of *Mascarocoffea* : new determinations of their chromosome number.** *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVI, n° 4, oct.-déc. 1972, p. 312-316, fig., tabl., réf.

The author presents a genetic study of the *Mascarocoffea* section, which is constituted of the sylvestre coffee-trees of Madagascar, The Comoro and Mascarene Islands, the seeds of which comprise a caffeine-free albumen.

The coffee-tree species studied originated from collections obtained from indigenous populations which were multiplied in the Kianjavato and Illaka-Est (Madagascar) IFCC stations.

In this memorandum are presented :

1° a simple and rapid method of counting the chromosomes in the mitosis stage of the genus *Coffea* : staining is provided in the cold, without previous hydrolysis, using an alum-hematoxylin based dye ;

2° the chromosome counts of thirty four *Mascarocoffea* species, twenty-two species of which are newly prospected and described. *Mascarocoffea* all have $2n = 22$ somatic chromosomes.

The interspecific crossing possibilities which might make it possible to use the advantageous biological and agronomical characteristics of these coffee-trees are contemplated.

LOUARN (J.). — **Introducción al estudio genético de los *Mascarocoffea* : nuevas determinaciones de sus números cromosómicos.** *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVI, n° 4, oct.-déc. 1972, p. 312-316, fig., tabl., réf.

El autor presenta un estudio genético de la sección de los *Mascarocoffea*, cafetos selváticos de Madagascar, de las Islas Comores y de las Islas Mascareñas cuyos granos se caracterizan por su albumen desprovisto de caféina.

Las especies de cafetos estudiadas provienen de colecciones procedentes de poblaciones indígenas multiplicadas en las estaciones del IFCC en Kianjavato y en Illaka-Est (Madagascar).

En esta nota se presenta :

1° un método sencillo y rápido para computar los cromosomas durante la mitosis del género *Coffea* : la coloración se hace en frío, sin previa hidrólisis, con un colorante a base de hematoxilina alunada ;

2° los cómputos de los cromosomas de treinta y cuatro especies de *Mascarocoffea*, de las cuales veintidos han sido prospectadas y descritas últimamente. Los *Mascarocoffea* tienen todos $2n = 22$ cromosomas somáticos.

Se considera la posibilidad de cruzamientos interespecíficos que permitirían sacar utilidad de los caracteres biológicos y agronómicos de interés de dichos cafetos.