

DONNEES PRELIMINAIRES CONCERNANT L'ANALYSE DES TENEURS
EN CAFEINE DES ESPCES ^E Coffea arabica ET C. canephora

J. BERTHAUD

Fev. 1973

Le caractère "teneur en caféine" est une caractéristique commerciale qui prend de plus en plus d'importance et doit donc guider la sélection des cafés. Le déterminisme génétique de ce caractère n'est pas connu, ni l'ampleur relative de la variation liée au milieu et de la variabilité génétique disponible. Des arguments dispersés permettent de penser que la part génétique puisse être importante. Ainsi CAPOT (C.V.) estime que la teneur en caféine d'hybrides arabusta (C. canephora tetraploïde x C. arabica) est intermédiaire entre les teneurs des deux parents.

Le présent compte-rendu essaie donc d'apporter des informations quantitatives précises à partir des analyses de teneurs en caféine faites à partir d'échantillons variés de C. arabica et C. canephora choisis par les chercheurs du programme de recherche conjoint (I.F.C.C., ORSTOM) ; toutes ces analyses ont été faites par un seul laboratoire, la même technique pour tous les échantillons.

On verra que l'échantillonnage ainsi disponible était trop dispersé pour que des conclusions vraiment définitives et utiles soient acquises en ce qui concerne les interactions génotype-milieu. Ainsi un choix concerté des échantillons à analyser est indispensable et c'est ce qu'il convient d'organiser à partir des résultats ici consignés.

4 JUN 1973

O. R. S. T. O. M. 421

Collection de Référence

B 6439 510
37m

I - MATERIEL.

C. arabica.

Pour cette espèce on étudie des C. arabica obtenus à partir de graines récoltées sur des arbres repérés en forêt ou en bordure de case par une mission de l'ORSTOM en Ethiopie (GUILLAUMET et HALLE 1966). Ces graines ont été distribuées au Cameroun, à Madagascar et en Côte d'Ivoire et dans chacun de ces pays une collection a été établie. En Côte d'Ivoire la collection a été répétée en plusieurs localités correspondant à des conditions climatiques différentes :

Bingerville, Abengourou Divo et Man (Tonkoui 1.100 m)

C. canephora.

Les C. canephora existant en Côte d'Ivoire sont d'origines diverses. Il existe dans ce pays des C. canephora spontanés dans la zone de forêt et dans les forêts galeries en bordure de savane ce sont en général des types Kouilou. Ces arbres ont servi à installer des plantations. C'est ainsi que l'on connaît différentes populations : Kouilou de Touba, Kouilou des Tos, Kouilou du Bandama, Petit indénié.

En 1920 et 1940, à partir du Congo Belge, plusieurs C. canephora de type robusta sélectionnés à l'INEAC, ont été introduits. Ces types sont plus exigeants et demandent des techniques culturales plus élaborées pour fournir une production intéressante. Ces populations Robusta INEAC ont été réselectionnées en Côte d'Ivoire dans les Stations agricoles de Gagnoa et Man.

Enfin le CRA et ensuite l'IFCC ont constitué une collection de clones à partir d'arbres choisis dans ces différentes provenances. La mesure des teneurs en caféine a été faite à partir d'échantillons récoltés sur les arbres de cette collection. Cette collection a été établie de 1961 à 1968 à la Station de Divo (C.I.) en 3 champs différents.

L'autre source de matériel provient des croisements dirigés que l'IFCC a réalisé entre clones intéressants agronomiquement et connus pour leur teneur en caféine. On a choisi 5

croisements types représentant approximativement l'ensemble des situations possibles, c'est à dire des croisements fort en caféine pas fort en caféine, faible par faible, fort par faible (voir tableau p.7).

II - METHODES.

1. Echantillonnage.

1a. C. arabica.

Dans les différentes collections chaque groupe de chercheurs a choisi un certain nombre de pieds intéressants par leur type de comportement : vigoureux, faible, florifère... c'est cet ensemble qui est ici analysé. Il en résulte que pour certaines origines on a pris des échantillons sur de nombreux pieds et pour d'autres sur un seul pied. Le comportement des différentes origines n'étant pas le même dans toutes les collections, la quantité d'arbres échantillonnés par origine est différente d'une collection à l'autre.

Notons que si pour une origine on a pris des échantillons sur plusieurs arbres, dans tous les cas on n'a analysé qu'un seul échantillon par arbre. Les fruits utilisés pour l'échantillon à analyser ont été récoltés à maturité.

Analyse des effets milieu et origine.

Le regroupement des résultats montre que l'on peut faire pour certaines origines une analyse sur deux milieux écologiques différents avec 4 répétitions par traitement (c'est à dire 4 arbres issus du même lot de graines récoltées en prospection). Pour ces origines ces 4 arbres ont été tirés au sort parmi l'ensemble des échantillons qui avaient été analysés. Une interaction milieu x origine peut être ici testée.

Analyse d'un effet année.

Le facteur année (conditions climatiques et vieillissement des arbres) a été étudié en répétant pour certains arbres l'analyse pour deux années successives.

1b. C. canephora.

Dans la collection de Divo chaque clone est représenté par quatre arbres. Pour un clone l'échantillon à analyser provient de fruits récoltés sur les 4 arbres.

Pour les croisements dirigeron a choisi une vingtaine d'arbres par croisement, chacun de ces arbres fournissant un échantillon (1)

(1) Les analyses de teneur en caféine sont réalisées dans le laboratoire de Physiologie Végétale de l'ORSTOM à Bondy selon la méthode de

III - RESULTATS.

III-1. C. arabica.

La moyenne des teneurs en caféine pour le C. arabica se situe aux environs de 1,2 %. Les deux arbres extrêmes pour ce caractère appartiennent à l'origine 17 (0,77 %, T.K) et 19 (1,78 % Divo).

(1) Effet année

+ Les arbres échantillonnés deux années de suite (1970 et 1971) soit à Divo, soit au Toukoui montrent qu'il existe un effet année pour ces origines (10 origines, 19 couples d'analyses) différence significative à $P = 0,05$ / La moyenne des teneurs en caféine passe de 1,32 % en 1970 à 1,28 % en 1971.

(2) Effet milieu

+ Dans la collection malgache et celle du Tonkoui 4 mêmes origines ont été échantillonnées sur 4 arbres au moins.

L'analyse met en évidence une différence entre les origines ($F > F_0$ $\alpha = 0,01$, $\beta = 0,8$)⁽¹⁾ et entre les deux milieux. La différence des moyennes entre les deux localités est de 0,13 % soit de l'ordre de grandeur de l'écart type résiduel (voir annexe 7),. Il n'y a pas d'interaction origine x milieu.

(3) Variabilité des origines au Tonkoui

+ On compare dans la collection du Tonkoui 18 origines (chaque origine est représentée par 4 arbres tirés au sort). Les origines sont significativement différentes les unes des autres ($P = 0,01$) l'écart type résiduel est de l'ordre de 0,1 (voir annexe 8)

(1) α est la probabilité de considérer $H \neq H_0$ alors que la différence entre H et H_0 est le seul fait du hasard..

$(1 - \beta)$ est la probabilité d'accepter $H = H_0$ alors que les deux hypothèses sont différentes, β est la puissance du test.

(4) Analyse globale de plusieurs origines appartenant ou non à un même milieu

+ Cette analyse permet une meilleure estimation des variances résiduelles et d'avoir une idée de l'importance globale de la variabilité de ce caractère sous l'effet conjoint des différences génétiques et de milieu.

On analyse un ensemble d'origines provenant de Bingerville du Tonkoui et de Madagascar représenté par au moins 8 échantillons. Dans ce cas on observe aussi des différences entre origines. L'écart type résiduel est du même ordre de grandeur que dans l'analyse précédente.

III-2. C. canephora.

III-2.a. Collection de clones

La moyenne pour la teneur en caféine se situe aux environs de 2,5 %. Les teneurs extrêmes ont été trouvées dans le croisement H 57 : 1,4 % et 3,8 %. Puisqu'on ne dispose que d'un échantillon par clones un regroupement des arbres est réalisé en fonction de l'origine de façon à obtenir plusieurs répétitions par origine. On constitue donc 4 groupes :

Robusta INEAC population N° 2 (en provenance du Congo-Belge 1933)

Robusta INEAC sans autre indication d'origine du Congo-Belge

Robusta LULLA (en provenance du Congo-Belge introduit en Côte d'Ivoire en 1935).

Kouillou originaire de Côte d'Ivoire sans indication de type de population (recouvre l'ensemble des populations de Kouillou).

Pour chaque population on a échantillonné de 15 à 22 clones. Les différences entre provenances sont significatives. Les deux populations R. INEAC ont des moyennes identiques, la population R. LULLA se situe à l'extrémité de la limite de signification tandis que les Kouillou de Côte d'Ivoire sont significativement différents des populations R. INEAC.

* Moyenne des teneurs en caféine de populations de C. canephora de Côte d'Ivoire

R. INEAC	R. INEAC 2	R. LULLA	K. spontanés! Côte d'Ivoire!
2,42	2,44	2,65	2,76

ppds : 0,25
0,05

III-2.b. Croisements dirigés intra C. canephora

N°	Type de croisements	parent femelle	parent mâle	% café-ine femelle	% café-ine mâle	Moyenne des 2 parents	Moyenne de la descendance
H23	fort x fort	KM29	107	3,0	2,6	2,8	2,62 ± 0,31
H51	faible x faible	143	43	2,3	2,3	2,3	2,54 ± 0,28
H57	faible x faible	A06	200	2,2	2,0	2,1	2,22 ± 0,50
H68	fort x faible	149	200	2,7	2,0	2,35	2,37 ± 0,37
H69	fort x faible	149	222	2,7	2,0	2,35	2,56 ± 0,40

Classement des moyennes des 5 croisements

H57	H68	H51	H69	H23
2,22	2,37	2,54	2,56	2,62

ppds 0,05 = 0,22

La différence pour les moyennes des différents croisements est significative à $p = 0,01$

l'écart type est de 0,38. Le coefficient de variation de 15 %.

Ainsi le choix des parents utilisés dans les croisements introduit des différences dans la valeur moyenne des descendance pour la teneur en caféine. La variance n'est pas égale pour tous les croisements.

Dans le cas des croisements où la variance est élevée on peut trouver des arbres à très forte et très faible teneur en caféine par exemple dans la descendance de H57 (A06 x 200) on a trouvé un arbre à 1,4 % de caféine et un autre à 3,8 % de caféine. Une sélection clonale peut donc amener dans certaines conditions un abaissement rapide de la teneur en caféine des clones diploïdes.

CONCLUSIONS.

I. La teneur en caféine moyenne des C. arabica sauvages d'Ethiopie est de 1,2 %, celle des C. canephora de 2,5 %. On voit donc que le C. arabica représente un progrès notable vers une plus faible teneur en caféine, mais il convient d'ajouter que les cultivars de C. arabica ont des teneurs encore plus faibles :

Bourbon amarelo	0,86
Catura amarelo	0,86
Mundo novo	0,97
Tana (Ethiopie)	0,81

(échantillons obtenus à partir d'arbres cultivés à Bingerville (C.I.). Les origines prospectées en Ethiopie présentent une variabilité d'origine génétique .

II. Il existe chez C. canephora une différenciation (pour la teneur en caféine) selon les régions ou les types (Kouilou ou Robusta). Les parents influent directement sur la moyenne de leurs descendances. Les différences de variabilité de diverses descendances ne peuvent être encore attribuées à des hétérogénéités génétiques ou à des homéostasies différentes des familles.

III. Le milieu agit directement sur l'expression du génotype puisque des arbres analysés deux années de suite donnent des résultats différents (variation de 0,04 %) et qu'il existe pour 5 origines une différence selon le lieu de prélèvement des échantillons (Madagascar ou Toukoui, variation de 0,13 %).

La sensibilité au milieu pourrait expliquer l'importance des variances observées dans les croisements entre clones connus de C. canephora.

Les résultats ne permettent pas de préciser clairement quelle est l'importance de l'effet milieu. On trouvera en annexe un modèle permettant de tester l'effet milieu et les calculs de puissance permettant de déterminer le nombre de répétitions nécessaires pour la précision désirée.

A N N E X E

I - Etude du facteur milieu.

Dans les analyses de variance précédentes on a utilisé un modèle du type $y_i = \mu + \alpha_i + e_i$ 1

avec : y_i = teneur en caféine pour l'origine i.

- μ = moyenne générale
- α_i = effet génétique origine i
- e_i = variation résiduelle

On peut envisager un modèle plus complexe permettant de mieux préciser l'effet du milieu.

En posant y_i = teneur en caféine pour l'origine i

- μ = moyenne générale
- α_i = effet génétique de l'origine i
- β_i = effet de l'âge de la plante
- γ_i = effet moyen du milieu
- δ_i = effet des conditions climatiques de l'année
- e_i = variation résiduelle

et $\alpha\beta$ = interaction du type α par β

$\alpha\beta\gamma$ = interaction de 3 facteurs

$\alpha\beta\gamma\delta$ = interaction des 4 facteurs

on a : $y_i = \mu + \alpha_i + \beta_i + \gamma_i + \delta_i + \alpha_i\beta_i + \dots + \alpha\beta\gamma\delta + \dots + e_i$

A partir de ce modèle on peut donc construire un plan d'essai et une analyse de variance.

Avant de mettre ce schéma en place il convient de voir combien de répétitions sont nécessaires pour obtenir une précision voulue avec des risques choisis par exemple :

- $\alpha = 0,05$
- et $\alpha = 0,01$
- et $\beta = 0,9$; 0,95 ; 0,99.

On étudie ce problème sur 2 essais analysés

- 1 : ensemble des origines C. arabica représentées par plus de 10 échantillons (6 origines)
- 2 : ensemble des croisements dirigés de C. canephora, 5 croisements, 23 répétitions en moyenne par croisement.

L'écart minimum que l'on veut mettre en évidence correspond à la situation suivante : toutes les moyennes sont identiques sauf deux qui diffèrent de $\Delta/2$ de la moyenne générale soit

$$m_1 \neq m_2, m_3 = m_4 = m_5 = \dots$$

$$\text{et } m_1 - m_2 = \Delta \quad m_1 - m_3 = \Delta / 2$$

$$m_3 - m_2 = \Delta / 2$$

1 C. arabica.

On a σ : écart type résiduel $\sigma = 0,126$

\bar{x} : moyenne de l'essai $\bar{x} = 1,13$

J : nombre de répétitions par origine

I : nombre d'origine $I = 6$.

On entre dans les abaques (PEARSON et HARTLEY 1951)

par la variable $\phi = \frac{\Delta}{\sigma} \sqrt{\frac{J}{2I}}$

On exprime Δ en fonction de l'écart type. On a donc

$$\phi = \frac{\Delta}{\sigma} = 0,289 \sqrt{J}$$

les degrés de liberté sont $V_1 = 5$

$$V_2 = I (J-1) = 6 (J-1).$$

On obtient donc le tableau I.

2 C. canephora.

On a σ : 0,38

$\bar{x} = 2,47$

J : nombre de répétitions

I : nombre de croisements : $I = 5$.

Comme précédemment on obtient :

$$\phi = \frac{\Delta}{\sigma} = 0,316 \sqrt{J},$$

les degrés de liberté sont $V_1 = 4$, $V_2 = I(J-1) = 5 (J-1)$

En fonction des risques choisis et des Δ différents on obtient le tableau II.

D'après ces tableaux on voit qu'en prenant un nombre de répétitions voisin de 15 on pourra mettre en évidence des différences entre les origines de *C. arabica* de l'ordre de 2σ soit : 0,25.

On a vu dans un essai précédent que l'effet du milieu est d'environ 1σ , pour le mettre en évidence il faudra donc utiliser entre 40 et 50 répétitions ce qui est compatible avec le paragraphe précédent puisque l'effet du milieu est mesuré sur un ensemble d'origines.

TABLEAU I

C. arabica

		$\Delta = 1\sigma$		$\Delta = 2\sigma$		$\Delta = 3\sigma$	
α	β	ϕ	J	ϕ	J	ϕ	J
0,05	0,9	1,67	35	1,8	10	1,8	5
	0,95	1,8	39	1,95	11	2,15	6
0,01	0,95	2,08	52	2,1	13	2,4	7
	0,99	2,35	66	2,5	18	2,6	9

TABLEAU III

C. canephora

	α	β	$\Delta = 1\sigma$	$\Delta = 2\sigma$	$\Delta = 3\sigma$		
	ϕ	J	ϕ	J	ϕ	J	
0,05	0,9	1,8	33	1,9	9	2,0	5
	0,95	1,9	36	2,1	11	2,12	5
0,01	0,95	2,2	49	2,37	14	2,5	7
	0,99	2,55	65	2,6	17	2,7	8

Le premier modèle utilisé est de la forme

$$y_1 = \mu + \alpha_i + e_i \quad 1$$

alors que l'on a vu que l'on peut penser au modèle 2 :

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_j + \delta_j + \sum \alpha\beta + \sum \alpha\beta\gamma + \sum \alpha\beta\gamma\delta + e_i \quad 2$$

on voit donc

$$\text{que } e_{i1} = \beta_i + \gamma_i + \delta_i + \sum \alpha\beta + \sum \alpha\beta\gamma + \sum \alpha\beta\gamma\delta + e_{i2}$$

il existe donc un moyen de réduire σ c'est de construire un essai où il sera possible de sortir les différents effets $\beta_i, \gamma_i, \delta_i$ et $\sum \alpha\beta$ mais on remarquera d'après les tableaux précédents qu'il faut entre 11 et 14 répétitions, pour avoir des chances acceptables de mettre en évidence des différences entre origines de l'ordre de 2σ , on ne peut tester sur les collections de C. arabica l'effet âge de la plante en une seule année. On ne peut l'obtenir qu'en répétant l'essai plusieurs années ce qui fait que l'on superpose à l'effet âge de la plante l'effet conditions climatiques particulières de l'année et au lieu de β_i on analyse en fait $(\beta_i + \gamma_i + \beta\delta)$.

Il convient peut être de reporter cette étude sur quelques clones C. canephora. Le bouturage permettant de multiplier le même génotype. On pourrait ainsi éliminer cet effet des comparaisons et il est possible de trouver un plus grand nombre d'arbres dans des situations différentes.

Dans le cas de C. arabica il semble qu'il faille se contenter d'un schéma d'analyse de variance à deux catégories correspondant à un modèle du type

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i \beta_j + e_{ijk}$$

où le facteur milieu figure sous la forme d'un effet additif et d'une interaction avec l'effet génétique.

Ce type d'analyse est compatible avec la dimension des collections puisque en prenant une quinzaine d'échantillons on assure pour l'effet milieu, avec 30 origines : 450 répétitions.

Dans le cas des C. canephora on a vu que l'écart type résiduel est beaucoup plus élevé, dans ce cas on devra étudier plutôt les effets du milieu sur des multiplications clonales.

ANALYSES DE VARIANCES DES DONNÉES

I - Effet milieu.

C. arabica Tonkoui et Divo

10 origines

19 couples analysés

on a $\bar{x}_{1970} = 1,326$

$$\bar{x}_{1971} = 1,282$$

$$d^2 = 0,206$$

$$t = 2,75^*$$

et $t_{0,05} = 2,1$

$$t_{0,01} = 2,8$$

II - Comparaison des origines dans 2 milieux (Madagascar -
Tonkoui).

A. Analyse de la variance

Source de variation	SCE	d.l.	CM.	F	F 0,01	Signification
origine	0,43	3	0,14	14	4,72	**
lieu	0,138	1	0,14	14	7,82	**
interaction	0,02	3	0,009			
résiduelle	0,24	24	0,01			
Totale	0,81	31				

B. Classement des moyennes

* origines	Et 15-17	Et 37	Et 59	p.p.ds (=0,05)=0,1
	0,99	1,2	1,24	

* milieux :
 Madagascar = 1,04
 Tonkoui = 1,17

III - Comparaison de 18 origines au Mont Tonkoui (1100 m)

A Analyse de la variance

Source de variation	SCE	d.l.	CM.	F	FO,01	Signification
Origine	0,875	17	0,05 147	3,73	2,35	* *
Résiduelle	0,745	54	0,01 379			
Totale	1,62	71				

B Classement des moyennes

				13	34							
				35	35-3	34-2						14
Et 17	Et 15	Et 53	Et 36/2	Et 38	Et 59	Et 56	Et 39	Et 37	Et 35-4	Et 46	Et 40	
1,05	1,08	1,15	1,18	1,23	1,25	1,28	1,30	1,33	1,38	1,43	1,45	

ppds 0,05 = 0,16

IV - Comparaison de 16 origines cultivées dans des milieux différents

A Analyse de la variance

Source de variation	SCE	d.l.	CM.	F	Signification
interorigine	3,289	5	0,6578	41,1	* *
résiduelle	1,394	87	0,016		
totale	4,683	92			

B Comparaison de moyennes

17Mad.	15Mad.	15TK	59Mad.	39D	40TK
0,92	0,93	1,08	1,16	1,21	1,44

p.p.d.s. = 0,05 = 0,09.

V - Teneur en caféine populations C. canephora

Analyse de la variance

Source de variation	SCE	d.l.	CM.	F	F tab. 0,05	Signification
entre populations	1,61	3	0,53	3,75	3,15	*
résiduelle	10,31	72	0,143			
totale	11,92	75				

VI - Teneur en caféine C. canephora croisements dirigés

Analyse de variance

Source de variation	SCE	d.l.	CM.	F	F Tab. 0,01	Signification
entre croisements	3,586	4	0,896	6,18	3,98	* *
résiduelle	16,083	111	0,145			
totale	19,669	115				

NOTE COMPLEMENTAIRE.

On a vu d'après les calculs de puissance des tests qu'il faut prendre une quinzaine d'arbres par origine pour pouvoir mettre en évidence des différences intéressantes. Je joins donc la liste des origines qui sont représentées au Tonkoui par au moins 15 arbres sur lesquels on pourra prélever un échantillon de graines.

6, 88, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 23, 25/2, 26, 27, 28, 29, 29/8,
30, 32, 32/2, 33/2, 34, 35, 35/2, 35/3, 35/4, 36/2, 37, 38, 39, 40,
42, 46, 47, 50, 53, 56, 59, 60

Il faudrait donc envoyer à Man (ORSTOM B.P. 793) une liste des origines existant dans vos collections pouvant fournir 5, 10, 15 échantillons lors de la récolte 1973, de façon à obtenir le maximum d'information des échantillons qui seront analysés à Bondy.