

ORSTOM

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION



ANALYSE

DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE

DE VINGT-SIX POPULATIONS

NATURELLES DE *COFFEA IND.*

D'AFRIQUE CENTRALE

Christophe GROELL

Document ORSTOM Montpellier, 1991, n° 5

Christophe GROELL

ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE
DE VINGT-SIX POPULATIONS
NATURELLES DE *COFFEA IND.*
D'AFRIQUE CENTRALE

Montpellier ORSTOM 1991

**Les opinions exprimées dans ce document
n'engagent que la responsabilité de leurs auteurs**

REMERCIEMENTS

Je tiens par ces quelques mots à adresser mes remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail et, en particulier, à :

- M. Charrier, Responsable de l'Unité Recherche ORSTOM "Bases Biologiques de l'Amélioration des Plantes" qui m'a proposé au titre du Service National en Coopération, la gestion du centre des Ressources Génétiques des caféiers africains de Divo (Côte d'Ivoire), et un programme de recherche.
- au Ministère Ivoirien de la Recherche Scientifique et à la Direction de l'I.R.C.C. en Côte d'Ivoire, qui ont permis mon accueil sur la station de Divo.

Je remercie d'autre part vivement François Anthony pour son soutien scientifique omniprésent, et sa sympathie.

Je remercie également Christophe Montagnon, ex VSN I.R.C.C. et sélectionneur *Robusta*, pour ses conseils avisés.

Je n'oublierai pas les cadres de la station et leur famille, en particulier Jean-Louis Pradon et Elisabeth.

Enfin, je tiens à remercier tous les membres de l'Opération conjointe I.R.C.C.-ORSTOM, ainsi que les techniciens du laboratoire d'électrophorèse.

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| RESUME | 4 |
| INTRODUCTION | 5 |
| MATERIEL VEGETAL ET DEMARCHE EXPERIMENTALE | 7 |
| I) Matériel végétal | 7 |
| II) Méthodes d'étude | 7 |
| RESULTATS | 14 |
| I) Etude de la diversité morpho-physiologique | 14 |
| II) Etude du polymorphisme enzymatique | 17 |
| DISCUSSION | 22 |
| I) Diversité observée entre les taxons | 22 |
| II) Structure de la variabilité à l'intérieur des taxons | 23 |
| III) Origine de la diversité | 24 |
| IV) Perspectives d'études | 25 |
| CONCLUSION GENERALE | 27 |
| BIBLIOGRAPHIE | 28 |
| ANNEXES | 30 |
| TABLE DES MATIERES | 38 |

RESUME

Les caféiers forment un complexe d'espèces réparties dans deux genres : *Coffea* et *Psilanthus*. Ils présentent un très grand polymorphisme visible à différents niveaux (morphologique, phénologique, technologique,...). Dans ce contexte, il est difficile de définir des limites taxonomiques.

Ce travail est une contribution à l'étude de la diversité génétique des *Coffea* d'Afrique centrale. Nous relatons dans ce document, l'analyse de la variabilité morpho-physiologique et le polymorphisme enzymatique de 26 populations naturelles de *Coffea indéterminés*, collectés au Cameroun et au Congo par l'ORSTOM. Ces 493 génotypes sont plantés dans les collections vivantes du Centre des Ressources Génétiques des caféiers africains de Divo (Côte d'Ivoire).

A partir de données morphologiques fragmentaires et de données enzymatiques obtenues sur environ la moitié des individus, Bontems (1990) a proposé un classement de ces populations en sept (7) taxons. Afin de préciser ce découpage taxonomique, nous avons étudié la variabilité morphologique et le polymorphisme enzymatique de l'ensemble des individus.

Pour appréhender la diversité isoenzymatique, nous avons utilisé une méthode d'électrophorèse sur gel d'amidon. Les données morphologiques proviennent d'observations réalisées en collection. Toutes les données ont été traitées par des analyses factorielles. Les résultats obtenus nous permettent de confirmer en partie la classification de Bontems et de préciser la structure des différents taxons. Nous avons caractérisé les huit (8) taxons définis, par des observations complémentaires concernant le mode de reproduction et la physiologie. Le taxon Moloundou est nettement différents des autres. Il présente un mode de reproduction original : l'autogamie et des caractéristiques qui le rapprochent des caféiers d'Afrique de l'Est. Nos études, nous ont permis de préciser l'existence de cinq sous-groupes : trois dans le taxon Moloundou et deux dans un taxon composé de onze populations du Congo.

Tous ces résultats montrent que l'Afrique centrale est une zone qui présente une forte diversité. Comme en Afrique de l'Est, cette diversité est liée à la présence d'ancienne "zones refuges" et de massifs montagneux auxquels sont inféodés de nombreux microclimats.

MOTS CLEFS : ORSTOM, COTE D'IVOIRE, COFFEA, DIVERSITE
MORPHO-PHYSIOLOGIQUE, POLYMORPHISME ENZYMATIQUE, TAXONOMIE.

INTRODUCTION

Ce travail est une contribution à l'étude de la diversité génétique des caféiers d'Afrique centrale. Il repose sur l'analyse du polymorphisme enzymatique et de la variabilité morphologique de 26 populations de *Coffea* originaux, collectés au Cameroun (Anthony *et al.*, 1985) et au Congo (de Namur *et al.*, 1987). Il a été réalisé dans le cadre du Service National en Coopération à l'antenne ORSTOM (Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération) sur la station centrale de l'I.R.C.C. (Institut de Recherche du Café, et du Cacao) à Divo (République de Côte d'Ivoire) de décembre 1989 à 1991.

Les caféiers sont des plantes tropicales qui appartiennent à une famille abondamment représentée dans la flore forestière : les Rubiacées. Ils forment un complexe d'espèces réparti dans deux genres : *Coffea* et *Psilanthus*. Toutes les espèces économiquement intéressantes sont dans le genre *Coffea* qui est originaire de la zone intertropicale africaine et malgache (Chevalier, 1947). Les botanistes ont rapidement été gênés dans leur travail de classification par le haut degré de polymorphisme qui existe naturellement dans le genre *Coffea*. Cette diversité s'exprime tant aux niveaux morphologique phénologique et technologique, qu'au niveau enzymatique (Berthaud, 1986). Dans le genre *Coffea*, les systématiciens ont décrit jusqu'à présent une cinquantaine de taxons malgaches et une trentaine d'africains. D'après Berthaud et Charrier (1988), les barrières d'origine génétique, mises en évidence par des croisements contrôlés, ne coïncident pas toujours avec la définition des espèces proposée par les taxonomistes.

Depuis les années 1960, la dégradation irréversible des écosystèmes forestiers africains s'est accentuée avec l'intensification de l'exploitation forestière et de la culture " sur brûlis". Les caféiers qui sont typiquement des plantes de sous-bois sont donc particulièrement menacés. Dès 1966, l'I.R.C.C. et l'ORSTOM se sont associés dans le but de sauvegarder les caféiers sauvages et de les étudier. Depuis cette date, huit campagnes de prospection ont eu lieu en Afrique, sur toute l'étendue de la zone intertropicale. Environ 8000 génotypes ont été collectés puis rassemblés dans les collections du centre des Ressources Génétiques des caféiers africains, installé en Côte d'Ivoire. L'ensemble de ce matériel fait l'objet d'une évaluation génétique, visant à comprendre la structure de la diversité et les relations génétiques à l'intérieur du complexe d'espèces.

La répartition des échantillons d'herbier montre que l'Afrique centrale est un des trois centres importants de diversité dans le genre *Coffea*. Pour cette raison, trois campagnes de prospection ont eu lieu en Centrafrique (Berthaud et Guillaumet, 1978), au Cameroun (Anthony *et al.*, 1985), et au Congo (de Namur *et al.*, 1987). Certains génotypes collectés n'ont pu être déterminés et rattachés avec assurance à une espèce connue. Il s'agit d'environ 500 individus représentant 26 populations du Cameroun et du Congo. Ces caféiers originaux ont fait l'objet d'études morphologiques et enzymatiques (Manès, 1988 ; Bontems, 1990). A partir de données morphologiques fragmentaires et de données enzymatiques sur environ la moitié des individus, Bontems a proposé un classement des 26 populations en sept taxons. Notre travail a consisté à étudier tous les individus en électrophorèse, et à utiliser un plus grand nombre de descripteurs morpho-physiologiques afin de préciser la classification déjà élaborée.

MATERIEL VEGETAL ET DEMARCHE EXPERIMENTALE

I) MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal se compose de 493 géotypes de *C. ind.* d'Afrique centrale, conservés en collection vivante sur la station I.R.C.C. de Divo. 82 individus ont été échantillonnés dans sept sites visités au Cameroun en 1983 (Anthony *et al.*, 1985). Les 411 *C. ind.* restants ont été collectés dans 21 populations du Congo, deux ans plus tard (de Namur *et al.*, 1987).

La figure 1 précise la localisation des différents lieux de prélèvement. Les caféiers de la région de Lolodorf (Cameroun) et du massif du Mayombe (Congo) ont été récoltés dans des forêts primaires denses et humides. Dans le massif du Chaillu (Congo), les populations de *C. ind.* ont été échantillonnées dans des forêts primaires contenant des zones de savanes incluses. Par contre dans la vallée de la Sangha (Congo) et dans la région de Moloundou (frontière Cameroun-Congo), l'environnement était constitué de forêts semi-décidues relativement homogènes. A l'ouest du Cameroun, la population Bakossi a été collectée dans des lambeaux forestiers.

II) METHODES D'ETUDE

Pour décrire la diversité observée, nous avons étudié la variabilité morpho-physiologique et le polymorphisme enzymatique de l'ensemble des géotypes. Pour compléter la description, nous avons réalisé des fécondations contrôlées sur les individus qui présentaient une bonne floraison. Dans le tableau 1, figurent les effectifs traités dans chaque type d'étude. Pour la morphologie, il a été possible de faire des observations sur 449 géotypes qui présentaient un développement végétatif suffisant. Les données enzymatiques ont été recueillies sur un nombre plus important d'individus (493). Par contre, les données phénologiques sont issues de la notation de 131 individus qui présentaient des fleurs en quantité suffisante. Dans les études de la variabilité morphologique, nous n'avons pas utilisé la population Song-Mbong car elle n'est composée que d'un seul individu. Cependant, nous avons précisé les caractéristiques qui singularisent ce géotype des autres individus de la région de Lolodorf.

FIGURE 1 : Localisation des 26 populations de *C. ind.* , collectées au Cameroun et au Congo.

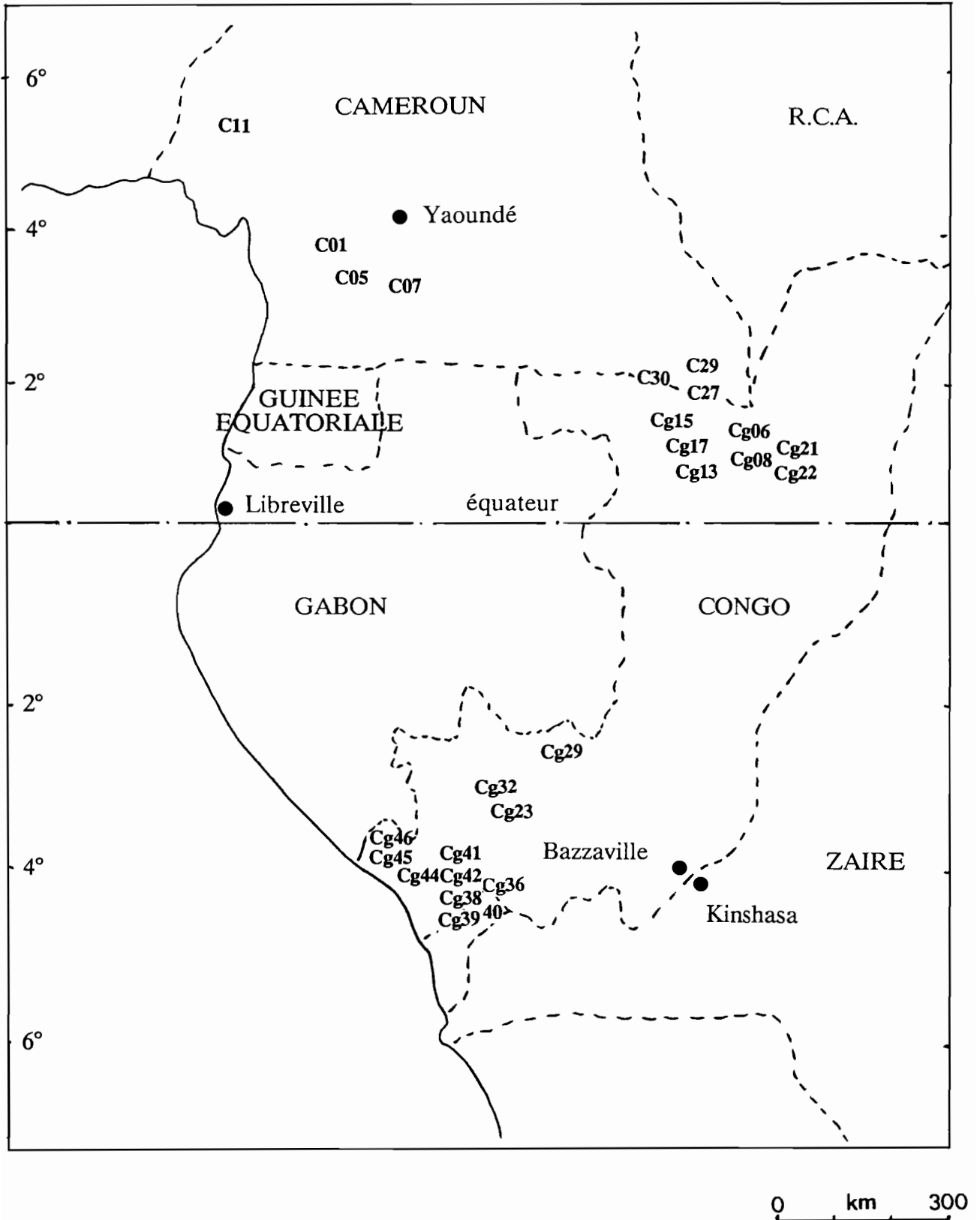


Tableau 1 : Effectifs analysés par population dans les observations morphologiques (MORPHO.), les études d'électrophorèse (ELEC.) et les études phénologiques (PHENO.)

| PAYS | PROVINCE | POPULATION | CODE | EFFECTIF TRAITE | | | |
|--------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|---------|-----------------|-------|--------|-----|
| | | | | MORPHO. | ELEC. | PHENO. | |
| C A M E R O U N | Lolodorf (S/W) | Song Mbong | C01 | 1 | 1 | 3 | |
| | | Nkoumbala | C05 | 55 | 63 | 16 | |
| | | Elon | C07 | 3 | 4 | 0 | |
| | Tombel (W) | Bakossi | C11 | 6 | 6 | 0 | |
| | Moloundou (S/E) | Moloundou1 | C27 | 5 | 5 | 3 | |
| | | Moloundou2 | C29 | 1 | 1 | 7 | |
| | | Moloundou3 | C30 | 2 | 2 | 2 | |
| | C O N G O | Vallée de la Sangha (N) | Ouesso1 | Cg06 | 5 | 5 | 0 |
| | | | Ouesso3 | Cg08 | 3 | 3 | 2 |
| Sembé2 | | | Cg13 | 7 | 11 | 2 | |
| Souanké1 | | | Cg15 | 2 | 2 | 1 | |
| Souanké2 | | | Cg17 | 52 | 45 | 6 | |
| Ouesso6 | | | Cg21 | 1 | 1 | 1 | |
| Ouesso7 | | | Cg22 | 6 | 7 | 9 | |
| Massif du Chaillu (S/W) | | Sibiti | Cg23 | 2 | 2 | 0 | |
| | | Bambama | Cg29 | 30 | 32 | 3 | |
| | | Komono2 | Cg32 | 11 | 12 | 7 | |
| Massif du Mayombe (S-S/W) | | Dimonika1 | Cg36 | 29 | 34 | 3 | |
| | | Mvouti1 | Cg38 | 6 | 7 | 0 | |
| | | Mvouti2 | Cg39 | 4 | 5 | 0 | |
| | | Mvouti3 | Cg40 | 12 | 16 | 1 | |
| | | Kakamoeka | Cg41 | 15 | 17 | 17 | |
| | | Kola | Cg42 | 44 | 45 | 23 | |
| | | Ngongo1 | Cg44 | 44 | 42 | 13 | |
| | | Ngongo2 | Cg45 | 73 | 86 | 10 | |
| | | Ngongo3 | Cg46 | 34 | 39 | 2 | |
| | | TOTAL DES GENOTYPES ANALYSES | | | | 449 | 493 |

1) Etude de la variabilité morphologique

Les descripteurs utilisés

Nous avons effectué des notations sur l'architecture des arbres et sur leur appareil foliaire en utilisant 22 descripteurs (annexe A). Certains descripteurs sont couramment employés au Centre des Ressources Génétiques comme ceux issus de l'observation des stipules et des domaties. Nous avons recherché de nouveaux critères dans le but de préciser la description des individus. Ceux-ci concernent particulièrement la ramification (longueur des entre-noeuds,...) et la morphologie foliaire (texture, aspect,...).

Codage des données

Toutes les données sont qualitatives et sont codées selon les modalités définies dans l'annexe A. Pour la variable "port", il faut souligner que plusieurs modalités sont possibles. En effet, un arbre peut avoir un port en boule et trapu. Le fichier de base comprend 22 variables numériques codant les caractères observés et 449 génotypes représentant 25 populations.

2) Etude du polymorphisme enzymatique

Description de la technique d'électrophorèse

C'est dans les années 1980 que l'électrophorèse sur gel d'amidon, fut adaptée au caféier par Berthou et Trouslot (1977). Cette technique permet de révéler les isozymes qui sont des marqueurs stables du génome. Pour un système enzymatique donné, la diversité de ces enzymes peut permettre de discriminer des taxons.

Dans notre étude, nous nous sommes tenus à révéler et à observer la variabilité de 7 systèmes enzymatiques couramment utilisés chez le caféier :

- estérases (EST)
- isocitrate déshydrogénase (ICD)
- malate déshydrogénase (MDH)
- phosphatases acides (PAC)
- 6-phosphogluconate déshydrogénase (PGD)
- phospho-isomérase (PGI)
- phosphoglucomutase (PGM)

Codage des données

Nous avons reporté dans le tableau 2, les principales caractéristiques (type de codage, structure, nombre de *loci* étudiés,...) de ces enzymes. Quand le déterminisme génétique est connu, les bandes sont codées sous forme d'allèle. Par contre, quand il demeure hypothétique, le codage se fait soit par bande, soit par zone de variation sous forme d'électromorphe. Parallèlement, nous avons exposé dans l'annexe B, la position des différents électromorphes des sept systèmes par rapport aux zymogrammes du témoins : le clone IF464 (*C. canephora*).

Berthaud (1986) a proposé le déterminisme génétique des *loci* EST α 3, PGI1 et PGM2. Les allèles sont codés par une lettre de l'alphabet, selon leur vitesse de migration croissante (tableau 2). Pour ICD, MDH et PGD nous utilisons le codage des électromorphes proposés par Anthony (1991). Pour le locus PAC2, nous nous sommes basés sur le codage par zones de variation de Bontems (1990) (annexe B).

Tableau 2 : Principales caractéristiques des enzymes utilisés.

| CODE | NOM DE L'ENZYME | CODAGE UTILISE | STRUCTURE | LOCI ETUDIES | ELECTRO-MORPHES |
|------|----------------------------------|----------------|-----------|--------------|---------------------------|
| EST | Estérase B | Allélique | Monomère | 1 | E.F.H |
| ICD | Isocitrate déshydrogénase | Phénotypique | Dimère | 1 | B.D.F.H. I.J.K. |
| MDH | Malate déshydrogénase | Phénotypique | ? | ? | B.D.F.H. J.N.T.V. |
| PAC | Phosphatases acides | Phénotypique | Dimère ? | 1 | PAC1 à PAC8 |
| PGD | 6Phosphogluconate déshydrogénase | Allélique | dimère | 2 | O.P.Q.R.V.W.X. E.F.G.J |
| PGI | Phospho-isomérase | Allélique | Dimère | 1 | D.F.H |
| PGM | Phospho-glucomutase | Allélique | Monomère | 1 | E.F.H.I |

Les données sont recueillies sur 493 individus. Elles sont stockées dans un fichier de base contenant 39 variables disjonctives, codant soit la présence soit l'absence des allèles ou des électromorphes.

3) Analyse des données

La diversité a été étudiée globalement, pour mettre en évidence des différences entre les sept taxons et à l'intérieur de chacun de ces groupes. Au niveau morphologique, le but recherché était de caractériser les taxons par des descripteurs facilement observables. Au niveau enzymatique, il était nécessaire de confirmer la représentativité de l'échantillon de Bontems (1990) et éventuellement de rechercher de nouveaux marqueurs caractéristiques.

Pour analyser la diversité nous avons réalisé deux analyses séparées, l'une pour les observations morphologiques et l'autre pour les données enzymatiques. Pour ces analyses, nous avons utilisé le logiciel de statistique à l'usage des biologistes : NDMS (Noirot, comm. pers.).

Une représentation de la diversité est obtenue par une Analyse Factorielle des Correspondances (AFC). L'AFC permet de synthétiser l'information contenue dans le tableau des données de départ en un nombre limité de facteurs ou axes factoriels. La signification des facteurs est donnée uniquement par les variables qui leur sont bien corrélées ($r > 0,7$). Le découpage des populations en groupes est précisé par une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). La constitution des groupes est ensuite testée par des Analyses Factorielles Discriminantes (AFD) à différents niveaux de la hiérarchie. La validité des regroupements est liée à la solidité des groupes et dépend de l'interprétation biologique qu'il est possible de proposer.

Les données morphologiques

A partir du fichier de base, nous créons un tableau de contingence pour chaque variable. Pour réaliser une étude sommaire de la répartition des caractères, nous procédons à des tests du χ^2 sur les populations les plus abondamment représentées. La réalisation de ce test suppose que les effectifs soient supérieurs à trois individus dans chaque classe du tableau. Ceci nous a donc amené à ne retenir que quatre variables. Pour la suite de l'analyse, les tableaux de contingence de chaque variable sont assemblés pour former notre fichier de travail.

La première AFC est réalisée à partir des quatre variables qui ont été triées et des populations utilisées dans ces tests. Pour renforcer l'interprétation des axes, nous ajoutons dans une deuxième AFC les variables supplémentaires qui présentaient de fortes contributions relatives. La diversité est alors étudiée dans sa totalité en utilisant les 25 populations.

les données enzymatiques

Dans cette partie, nous avons utilisé dans l'analyse 293 génotypes en plus de ceux étudiés par Bontems. La description du polymorphisme enzymatique a été complétée par l'utilisation du locus EST α 3.

A partir de l'analyse des fréquences absolues, il est possible de caractériser les taxons et de mettre en évidence leur variabilité. Les électromorphes ou allèles rares ne participent pas aux analyses descriptives du polymorphisme. L'étude de leur répartition est néanmoins utile pour caractériser des individus particuliers ou des sous-groupes de diversité.

Le polymorphisme inter-taxons est mis en évidence à l'aide d'une AFC qui est réalisée sur tous les individus. Pour choisir les variables actives, la méthode diffère de celle utilisée lors de l'analyse des données morphologiques. En effet les variables qui participent à l'analyse sont celles qui présentent une fréquence d'apparition supérieure à 10% ce qui correspond à des allèles ou électromorphes communs. Les analyses factorielles permettent également de représenter la diversité observée à l'intérieur des taxons.

RESULTATS

I) ETUDE DE LA DIVERSITE MORPHO-PHYSIOLOGIQUE

1) Analyse des descripteurs morphologiques

Les 4 tests du Khi², réalisés sur les tableaux de contingence sont très hautement significatifs (seuil de probabilité inférieur à 0,001). Il s'agit des variables suivantes :

- la longueur des entre-noeuds orthotropes (courte, moyenne ou longue)
- l'aspect des feuilles (mat ou brillant)
- la couleur des feuilles adultes (vert clair ou vert foncé)
- l'extrémité de l'acumen (arrondi ou pointu)

L'interprétation de l'AFC se limite au premier plan qui concentre 56% de la variabilité (annexe C). En effet, au delà du deuxième axe, les variables présentent des corrélations trop faibles. Sur la partie positive de l'axe 1, se détache un ensemble composé des populations Cg45 et Cg46 et des populations Cg36-38-39-40 composant le taxon Mayombe (figure 2). Ces populations sont caractérisées par des feuilles présentant un aspect mat, une marge plane et par des jeunes feuilles de couleur anthocyanée. Sur l'axe 2, les populations restantes se séparent en deux groupes :

- du côté positif de l'axe, les populations Bakossi et celles du groupe Moloundou se distinguent par des domaties glabres et des feuilles adultes de couleur vert-foncé à nervation secondaire saillante

- du côté négatif se détache un ensemble formé de 11 populations du Congo (Cg06-08-13-21-22-23-29-32-41-42-44), accompagnées des deux populations de Lolodorf (C05-C07). Ces individus sont caractérisés par des entre-noeuds orthotropes longs et par des feuilles présentant une texture papyracée.

La CAH réalisée sur 2 facteurs permet de constituer trois groupes contenant tous les taxons définis par Bontems (1990) (figure 3). Une seule population (Cg39) est mal classée, mais elle rejoint les autres populations de son groupe (Mayombe) par une AFD. Cette population se situe en position intermédiaire entre le taxon Mayombe et le taxon largement distribué au Congo. Ceci est dû à la présence d'un individu sur les quatre étudiés qui présente des caractéristiques communes avec les individus de la population Cg44 (couleur des jeunes feuilles vertes en particulier).

FIGURE 2 : Représentation graphique de l'AFC des données morphologiques .

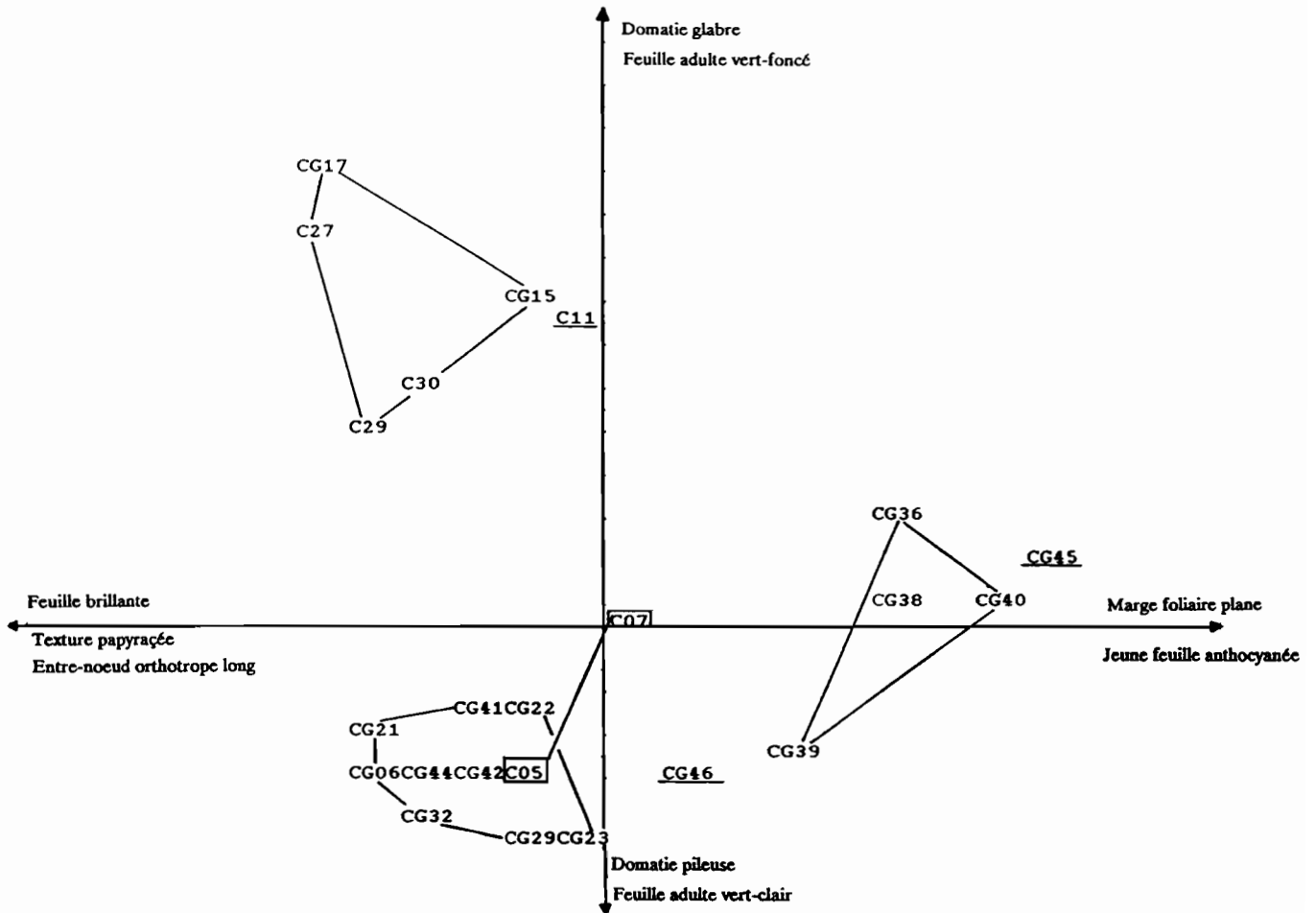
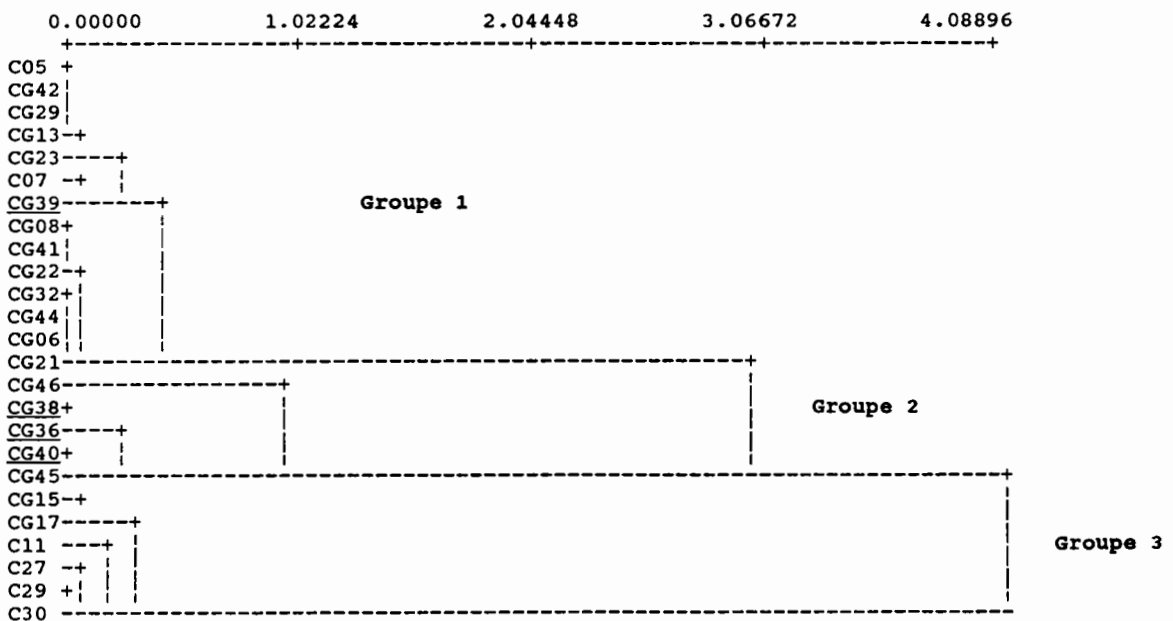


FIGURE 3 : Dendrogramme de la CAH réalisée lors de l'analyse morphologique.



Légende :

- Groupe 1 : Taxon congolais et Taxon Lolodorf
- Groupe 2 : Taxon Mayombe, Taxon Ngongo2 et Taxon Ngongo3
- Groupe 3 : Taxon Bakossi et Taxon Moloundou

2) Caractérisation des taxons

L'ensemble des données que nous avons recueillies au niveau morphologique permet de préciser le découpage issu des données de l'AFC. Les sept taxons sont facilement identifiables par les caractères morfo-physiologiques suivants :

- le taxon Bakossi : 6 individus de la population C11. Ces caféiers sont de petite taille, présentent une tige grêle sans stipule. Tous les individus ont des problèmes de croissance, ce qui explique qu'ils ne soient pas encore multipliés, huit ans après leur introduction. Les feuilles vert-foncé sont petites, rondes et coriaces, avec des pétioles courts. Le port est en boule et le feuillage clairsemé. Les fruits violet-foncé sont petits, sphériques avec un disque plat peu développé.

- le taxon Moloundou-Souanké : 55 individus des populations. C27,29,30, et Cg15,17. Ces arbustes au feuillage fourni, vert-foncé, ont une allure générale typique. En effet tous les individus sont très homogènes et présentent un port nettement pyramidal. La floraison principale survient sept jours après la pluie d'induction, ce qui correspond à un retard d'un jour par rapport aux autres populations. Les fruits sont petits, sphériques avec un petit disque, rouge-vif à maturité. Ils possèdent d'autre part une caractéristique inédite chez les caféiers diploïdes : un mode de reproduction autogame.

Les résultats obtenus par Bontems ont été confirmés lors de la campagne d'auto-fécondation réalisée cette année (tableau 3). Vu les précautions très strictes prises lors de la réalisation de ces fécondations contrôlées et du suivi des ovaires, nous pouvons considérer que les risques de contamination ont été très faibles. Or, nous avons obtenu 378 grains pour 1239 fleurs auto-fécondées sur 6 géotypes différents, ce qui représente un taux de réussite égal à 30,5 % . Ces résultats confirment donc l'autogamie. Il faut d'autre part remarquer que le taux de réussite en fécondation libre est de 88,5 % .

Tableau 3 : Taux de réussite des hybridations tentées sur le taxon Moloundou en 1988 (n=2 géotypes), en 1989 (n=5) et en 1990 (n=6) : autofécondations contrôlées (AF) et fécondations libres (FL)

| ANNEE | 1988 | | 1989 | | 1990 | |
|------------------|------|----|-------|-----|-------|-------|
| | AF | FL | AF | FL | AF | FL |
| Nombre de fleurs | 122 | 96 | 1326 | 557 | 1239 | 261 |
| Nombre de grains | 0 | 0 | 167 | 139 | 378 | 231 |
| Réussite (%) | 0 | 0 | 12,6% | 25% | 30,5% | 88,5% |

- le taxon Lolodorf : 67 individus des populations C05,C07.
Ces caféiers ont une allure générale homogène. Ils sont de grande taille, avec un port élancé souvent losangique et un feuillage clairsemé. Les feuilles vert-clair sont petites, rondes et minces. Les fruits (jamais observés sur la population C07) sont de grande taille, rouge-orangé, voire violacés à maturité, avec un gros disque plat présentant une protubérance centrale volumineuse.

- le taxon Song-Mbong : 1 individu de la population C01.
Les feuilles sont de taille moyenne, subcoriaces. Les fruits sont typiquement côtelés, allongés avec un petit disque.

- le taxon Mayombe : 62 individus des populations Cg36,38,39,40 .
Ces arbustes sont peu développés avec des feuilles étroites et allongées de taille moyenne, qui présentent de petites domaties. La texture des feuilles est papyracée, leur marge plane, et la nervation secondaire est discrète.

- le taxon Ngongo2 : 86 individus de la population Cg45.
Ces individus sont peu vigoureux et semblent présenter des problèmes d'adaptation aux conditions de Divo. Ils sont sensibles à la rouille orangée. L' aspect des feuilles est souvent mat, et leur marge plane. La nervation secondaire est discrète, et la texture foliaire mince. Il semble que ce type présente des caractères intermédiaires entre le taxon Mayombe et celui décrit ci dessous.

- le taxon Ngongo3 : 39 individus de la population Cg46.
Ces phénotypes diffèrent de ceux de la population Cg45 par des feuilles plus grandes et plus épaisses (subcoriaces). Leur nervation secondaire est prononcée et les domaties sont étroites.

- le taxon congolais : 162 individus des populations Cg06,08,13,21,22,23,29,32,41,42,44.
Elles se caractérisent par une bonne vigueur des arbrisseaux, des grandes feuilles à nervation secondaire marquée, qui présentent une marge très ondulée. Les stipules sont toujours allongés, et les domaties larges. Toutefois, il est très difficile de distinguer les origines d'après la morphologie.

II) ETUDE DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE

1) Caractérisation des différents taxons

Nous avons regroupé dans l'annexe D, les fréquences absolues d'apparition des 43 électromorphes étudiés, par population. Ces résultats nous ont permis de réaliser une première approche de la répartition de la diversité enzymatique au sein et entre les différents taxons étudiés.

Certaines populations peuvent être très homogènes comme celles du taxon Moloundou (C27,29,30, Cg15,17), et celle du taxon Bakossi (C11) et ceci pour tous les systèmes étudiés. Par opposition, d'autres populations (surtout celles du Mayombe) présentent une plus forte variabilité.

Certains allèles ou électromorphes des systèmes ICD, MDH, PAC, PGD sont caractéristiques d'une ou de deux régions. 9 marqueurs sur 18 sont localisés au Cameroun, dans les régions de Bakossi et Moloundou (tableau 4). 6 autres électromorphes ne sont rencontrés que chez certains individus du taxon Mayombe.

Tableau 4 : Répartition des allèles ou électromorphes localisés au plus dans deux régions.

| ELECTROMORPHE | REGION | FREQUENCE RELATIVE PAR POPULATION |
|----------------------------|---------------------------------|---|
| PAC1 | Moloundou Souanké | C27, C29, C30 (chacune 100%) Cg15, Cg17 (chacune 100%) |
| PGD1 X | Bakossi Moloundou Souanké | C11 (100%) C27, C29, C30 (chacune 100%) Cg15, Cg17 (chacune 100%) |
| PAC8 | Bakossi | C11 (100%) |
| MDH-B MDH-H | Bakossi | C11 (100%) C11 (66%) |
| MDH-D MDH-F | Bakossi | C11 (100%) |
| ICDB | Bakossi | C11 (100%) |
| MDH B et F | Lolodorf | C05 (5%) |
| ICDK | Lolodorf | C05 (1,7%), C07 (75%) |
| PGD1-O PGD1-P PGD1-Q | Mayombe | Cg36 (14%), Cg40 (25%) Cg36 (76%), Cg38 (16%) Cg39 (50%), Cg40 (68%) Cg36 (45%), Cg38 (33%) Cg39 (50%), Cg40 (31%) |
| PGD2-J | Mayombe | Cg36 (97%), Cg38 (85%) Cg39 (100%), Cg40 (87%) Cg45 (44%) |
| PAC2 PAC3 | Mayombe | Cg36 (59%), Cg38 (100%) Cg39 (80%), Cg40 (100%) Cg45 (7%), Cg46 (10%) Cg36 (28%), Cg39 (20%) Cg40 (33%) Cg45 (37%), Cg46 (30%) |
| MDH-D et F | Chaillu | Cg29 (18%) |

Les différences qualitatives dont l'existence avait déjà été remarquée par Bontems (1990), sont confirmées par notre étude globale. Elles séparent :

- les individus du taxon Bakossi possèdent l'allèle PGD-X qui est fixé. Ce taxon s'individualise également grâce aux électromorphes à migration lente MDH-B, D, et F et ICD-B, et par le zymogramme PAC8, qui sont fixés.
- les individus du taxon Moloundou possèdent l'allèle PGD-X et le zymogramme PAC1 qui sont fixés.

Parmi les autres populations, des différences quantitatives, permettent de faire les distinctions suivantes :

- le taxon Mayombe, caractérisé par l'électromorphe J de PGD2 et par la présence de 3 allèles rares PGD-O, PGD-P et PGD-Q qui ne sont pas fixés.
- l'ensemble des populations du Mayombe où l'on note la présence des zymogrammes PAC2 et PAC3.

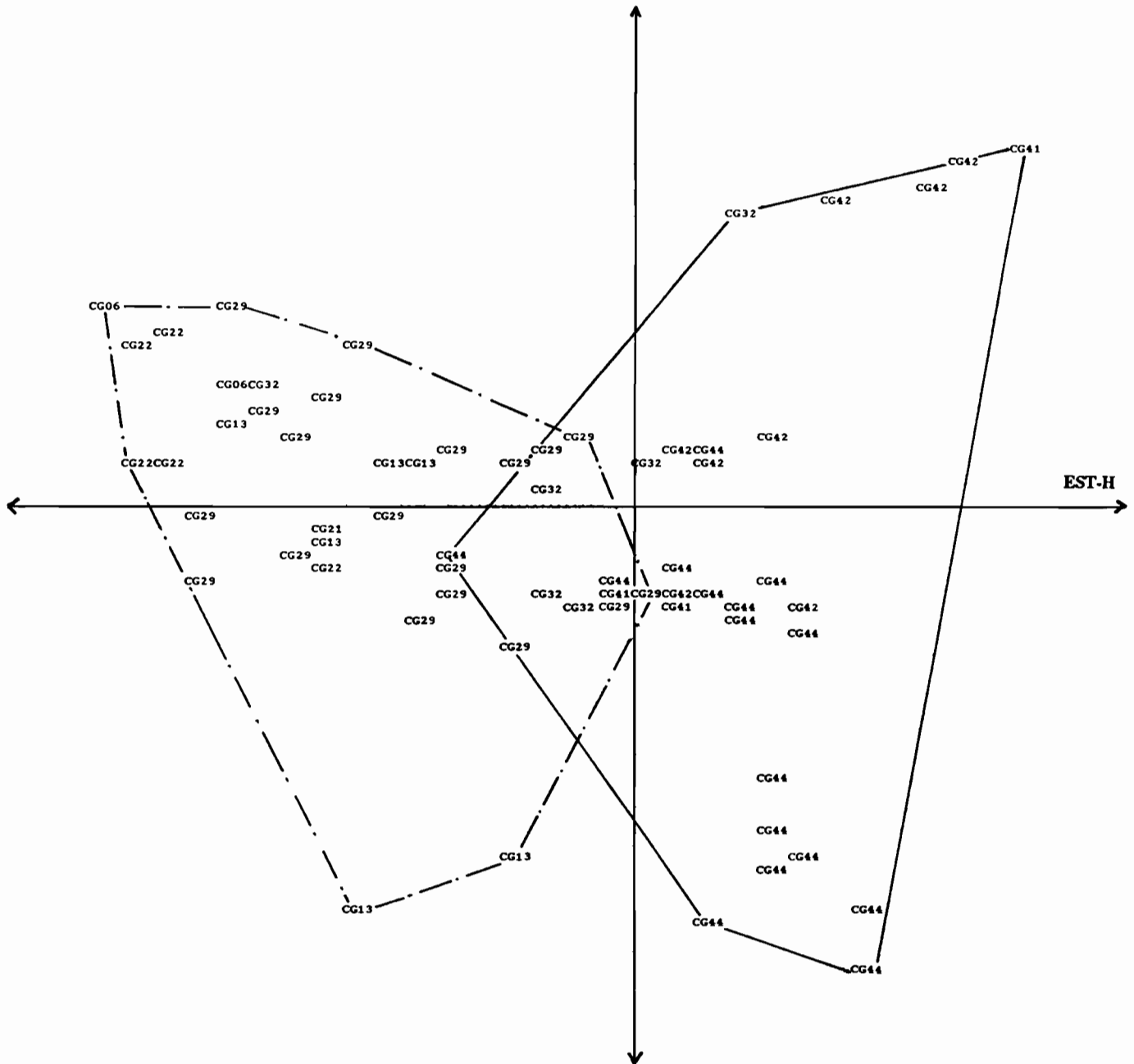
Dans les régions de Lolodorf et du massif du Chaillu, ils existent respectivement des électromorphes MDH-B, MDH-D, ou MDH-F et ICD-K, qui sont cependant peu représentés.

2) Structure de la variabilité à l'intérieur des taxons.

Dans les taxons Bakossi et Moloundou, nous avons déjà vu qu'il existait une grande homogénéité. Dans le cas du taxon Mayombe, il y a peu de différences. Seuls quelques individus de la population Cg36, la plus représentée présentent des électromorphes particuliers. En revanche, dans le taxon constitué des onze populations congolaises, nous avons pu définir deux sous-groupes à l'aide des analyses factorielles.

Lors de cette étude, nous n'avons pas utilisé les données afférentes au système MDH, qui sont trop homogènes. Par contre, les données du système Estérases sont très intéressantes. En effet, EST-H est la seule variable qui est bien corrélée à un axe (annexe E). Sur la représentation graphique (figure 4), deux ensembles se détachent nettement sur l'axe 1 : du côté positif de l'axe un groupe formé des populations Cg32-41-42-44 caractérisé par l'allèle EST-H et du côté négatif l'ensemble des populations restantes.

FIGURE 4 : Représentation graphique de l'AFC du polymorphisme enzymatique



Ces 2 sous groupes apparaissent sur le dendrogramme de la CAH. Leur solidité est confirmée par une AFD qui reclasse deux individus de la population Cg29 qui étaient mal classés, avec les autres populations du Chaillu et de la Sangha. Ces deux individus n'ont pas un profil électrophorétique qui permet d'expliquer cette exclusion.

DISCUSSION

Au cours de cette discussion, nous étudions successivement la structure de la diversité génétique entre les taxons puis à l'intérieur de ces groupes. Pour comprendre la diversité observée, nous faisons appel aux données du paléo-environnement. Pour terminer, nous exposons quelques idées sur les travaux à entreprendre qui pourraient faire suite à cette étude. Cette partie est complétée par des recommandations concernant surtout le suivi des collections, et la réalisation des auto-fécondations.

1) La diversité observée entre les taxons

L'analyse des données morphologiques n'a pas permis de définir les sept taxons. En effet, l'analyse statistique de la répartition des 22 caractères morphologiques ne permet de constituer que trois groupes (deux groupes de deux taxons et un groupe de trois taxons). Cette discrimination se base sur seulement cinq descripteurs. Pour l'expliquer, nous pouvons invoquer les difficultés suivantes :

- le codage des données est parfois source de problèmes. Ceci est bien illustré par le descripteur : port. Pour cette variable, il existe au champ des différences nettes qui permettent d'identifier certains taxons (exemple : le port pyramidal caractéristique du taxon Moloundou). Or cette variable n'est pas utilisée dans la description de la diversité de l'AFC. Ceci est lié à l'éclatement de la notation en six classes.

- lors des observations de l'architecture des arbres, nous avons été gêné par l'hétérogénéité du matériel. En effet tous les individus n'avaient pas le même âge et ne présentaient pas la même adaptation aux conditions de culture. Pour contourner ce problème, une solution serait de mettre en place des essais de type agronomique. Malheureusement, ceci n'est pas envisageable pour une simple description botanique.

- un caractère peut être utile pour caractériser un taxon, mais être trop peu représenté. Dans ce cas, il présente une masse trop faible ou une corrélation insuffisante qui l'exclut de l'analyse.

L'utilisation d'autres critères morpho-physiologiques nous a permis de caractériser avec précision les sept taxons. Parmi eux, un groupe se distingue nettement, c'est le taxon Moloundou.

Les individus de cette région sont homogènes et présentent toujours une forme buissonnante. La maturation des fruits est plus rapide (un mois d'avance par rapport aux autres populations). Leurs teneurs en caféine et en acides chlorogéniques sont les plus faibles enregistrées sur un taxon d'Afrique centrale (Anthony *et al.*, 1989) ce qui les rapproche des caféiers d'Afrique de l'Est. De plus, ces individus possèdent un mode de reproduction autogame. L'existence de l'autogamie a été mise en évidence deux années de suite, par l'obtention de fruits sur des branches d'autofécondation contrôlée. En 1988, les arbustes travaillés étaient trop jeunes ce qui explique l'échec total de la campagne de fécondation. La comparaison entre années des résultats obtenus en fécondation libre montre qu'il existe un effet année, lié certainement à la jeunesse des arbres. Pour les autofécondations le taux de réussite est toujours beaucoup plus faible qu'avec les fécondations libres. Ceci est lié à la pose des manchons d'isolement.

L'étude globale de la diversité d'environ huit *loci* confirme les résultats de Bontems (1990). Son échantillon (environ la moitié des individus) était représentatif et les marqueurs isoenzymatiques qui permettent de discriminer les taxons Bakossi, Moloundou et Mayombe sont identiques. Les allèles fixés ne sont représentés que dans les régions du Cameroun. Il existe des différences qualitatives (présence d'allèles spécifiques d'un massif) et quantitatives (variation de fréquences) qui isolent les populations collectées au nord (Cg45,46) et au sud du Mayombe (taxon Mayombe) des autres populations.

D'une manière générale, les différences observées au niveau enzymatique sont moins marquées qu'au niveau morphologique. Cette situation ressemble à celle décrite par Anthony (1991) chez les taxons *C. pseudozanguebariae*, *C. sessiliflora* et *C. spF* d'Afrique de l'Est. Par opposition, en Afrique centrale et occidentale, *C. canephora* présente une variabilité enzymatique plus importante. Berthaud (1986) a mis en évidence l'existence de deux groupes (guinéen et congolais) avec trois allèles fixés. Ceci est donc un argument supplémentaire pour dire que l'existence de nombreux microclimats inféodés à des zones montagneuses favorise l'apparition de types morphologiques variés. Cette étude montre que l'Afrique centrale qui a été longtemps considérée comme une zone homogène présente en fait des régions très diversifiées.

2) Structure de la variabilité à l'intérieur des taxons

Malgré leur autogamie, des caractéristiques morphologiques (le port et le feuillage) permettent de reconnaître trois sous-groupes dans le taxon Moloundou. Il s'agit des ensembles suivants : C27,29,30 (port plus élanqué, feuillage lâche) ; Cg17 ; et Cg15 (port plus trapus, feuillage dense). Tous ces individus sont homogènes au niveau enzymatique.

Dans le taxon Mayombe, les caractères morpho-physiologiques varient peu et il existe seulement quelques différences quantitatives, en particulier pour PGD-P (cas de Cg38) et pour PAC2 (cas Cg36).

La structure du taxon largement distribué au Congo a été précisée grâce aux marqueurs isoenzymatiques (allèles du locus EST α 3). Les deux groupes formés à partir des résultats des analyses factorielles se discernent mal par les caractéristiques morphologiques et physiologiques que nous avons observées.

En définitive, il faut retenir qu'il existe une variabilité au sein des taxons qui est mise en évidence par des différences quantitatives. Il appartient aux botanistes de décrire ces sous-groupes au rang de sous-espèce, race ou variété, selon la nature des différences.

3) L'origine de la diversité

Pour comprendre la distribution actuelle de la diversité, nous pouvons faire appel à la théorie des "zones refuges". Lors de la période quaternaire, diverses phases climatiques se sont succédé. Ces alternances de climat ont largement contribué à la répartition actuelle de la flore. Au moment des périodes arides et sèches, les taxons de caféiers se sont maintenus dans des zones forestières très localisées où il existait encore un climat favorable. Après le retour de conditions climatiques plus favorables, certains taxons ont recolonisé avec d'autres espèces forestières les zones où la forêt avait disparu. Par contre, d'autres taxons sont restés inféodés à ces "refuges". Actuellement il est admis que les zones à forte diversité sont souvent localisées près d'anciennes "zones refuges". Or notre étude, montre qu'il existe cinq régions où l'on observe des formes endémiques. Il s'agit des zones situées à l'ouest du Cameroun (Bakossi, et Lolodorf), dans les massifs forestier du Chaillu et du Mayombe, et la région de Moloundou-Souanké.

D'après Maley (1987), des études de la flore et des pollens fossilisés ont montré que des refuges ont fonctionné au Cameroun et au Congo. Leur répartition correspond aux zones de diversité que nous avons mises en évidence avec les *C. ind.* sauf pour la zone de Moloundou. Les particularités qui rapprochent ces caféiers de Moloundou de ceux d'Afrique de l'Est, nous permettent de proposer les deux hypothèses suivantes (Anthony, 1991). Du refuge du Zaïre orientale, certaines espèces ont donc pu migrer à travers la cuvette Zaïroise en direction de l'Afrique centrale. Le taxon de Moloundou pourrait donc résulter soit de l'adaptation d'une espèce Est-africaine, soit de l'hybridation entre un *Coffea* Est-africain et une espèce d'Afrique centrale. Ces observations sont comparables à la situation décrite par Leroy (1980) et Bridson (1982) sur *C. kapakata*, un caféier d'Angola. L'existence de ces taxons particuliers est un argument pour étayer l'hypothèse de la migration des caféiers d'Afrique de l'Est vers l'ouest.

Comme en Afrique orientale, le fonctionnement de plusieurs refuges et l'existence de zones montagneuses auxquelles sont inféodées de nombreux microclimats ont été générateurs d'une forte diversité. Les micro-climats ont favorisé l'apparition de taxons localisés très adaptés, qui sont constitués par des populations denses (exemple le Mayombe). Ils s'opposent à d'autres groupes de diversité qui colonisent des milieux plus homogènes comme la vallée de la Sangha en se dispersant.

4) Perspectives d'études

Dans le but de préciser la taxonomie, notre étude a été complétée par la préparation d'échantillons d'herbier représentatifs des différents taxons caractérisés. Ils feront l'objet de comparaisons avec les autres types de *Coffea* d'Afrique centrale déjà répertoriés dans les grands herbiers internationaux (Paris, Meise, Kew, Berlin et Wageningen). Parallèlement, afin de mieux mettre en valeur la diversité existante en Afrique centrale, il serait souhaitable de continuer l'étude de l'organisation évolutive de ce nouveau groupe de caféiers en suivant les quatre axes directeurs suivants.

Le premier concerne la collecte de nouveaux caféiers. Pour compléter nos collections, il faut prospecter de nouvelles zones situées en Afrique centrale à la frontière Cameroun-Congo, au Gabon, et à l'est du Zaïre. Il serait également souhaitable de revisiter les zones caractérisées par une forte diversité (Lolodorf et Mayombe en particulier).

Le deuxième axe concerne le suivi des collections. Il est nécessaire de résoudre les problèmes de conservation qui existent pour certains taxons. C'est le cas notamment des individus de la population Bakossi, qui ne sont pas encore multipliés depuis leur introduction (huit ans). Dans l'immédiat, ces taxons doivent faire l'objet d'une surveillance attentive et il faut rechercher des porte-greffes plus adaptés que *C. canephora*. Ceci est un problème que nous avons déjà rencontré dans le Centre des Ressources Génétiques avec *C. fadenii* collecté au Kenya. Couturon (comm. pers.) a réussi à sauver un pied en le greffant sur une souche très vigoureuse d'un hybride triploïde (*C. arabica* x *C. canephora*).

Le troisième axe directeur a trait à l'acquisition des données de l'évaluation. Il faut poursuivre les observations concernant surtout la morphologie des inflorescences et des fruits. Au niveau électrophorétique, il serait intéressant d'utiliser de nouveaux *loci* pour compléter la description de la diversité isoenzymatique.

Enfin, il faut continuer les études sur des caractéristiques particulières (autogamie, faible teneur en caféine) de ces taxons. Ceci pose le problème de l'utilisation éventuelle des ressources génétiques dans les schémas de sélection. Les hybridations contrôlées précisent l'existence des freins génétiques qui sont matérialisés par l'échec des fécondations et le mauvais comportement des descendances, entre les divers taxons et avec d'autres espèces. Pour confirmer l'autogamie, nous devons nous orienter vers des études histologiques ou moléculaires. Lors de la prochaine campagne de fécondation, on confirmera l'autofertilité du taxon Moloundou en soignant particulièrement la pause des manchons, pour augmenter les taux de réussite.

CONCLUSION GENERALE

Ce séjour réalisé au titre du Service National s'est avéré être une expérience très passionnante tant au niveau scientifique que sur le plan social. Néanmoins, il a fallu surmonter certaines contraintes liées à l'isolement géographique de la station (groupe électrogène,...).

La responsabilité du germplasm ORSTOM sur la station de l'I.R.C.C. à Divo nous a familiarisé avec les méthodes utilisées dans les Centres de Ressources Génétiques. De plus, les contacts avec différents chercheurs de l'I.R.C.C. nous ont permis d'appréhender les techniques de sélection et d'évaluation agronomique appliquées à une plante forestière tropicale.

Aidé par une équipe de onze personnes (4 techniciens, 1 pépiniériste, et 5 ouvriers agricoles), nous avons assuré le suivi de la collection composée d'environ 11000 individus. Cette tâche a été simplifiée grâce à l'utilisation d'une base de données créée par Anthony et Mercier (1987), dans laquelle sont stockées toutes les données concernant l'origine, la position, la nature et les caractéristiques des individus. Parallèlement, il a fallu organiser la collecte des observations scientifiques destinées à l'évaluation du matériel (électrophorèse, campagne de fécondations contrôlées, pesées des productions, échantillons technologiques,.....).

BIBLIOGRAPHIE

- ANTHONY F., 1991.** - Les ressources génétiques des caféiers : collecte, conservation en collection vivante et évaluation de la diversité génétique. Thèse de l'Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, à paraître .
- ANTHONY F., COUTURON E., de NAMUR C., 1985.** - Les Caféiers sauvages du Cameroun. Résultats d'une mission de prospection effectuée par l'ORSTOM en 1983. 11^e Colloque de l' A.S.I.C Lomé (Togo), 495-505.
- ANTHONY F., CLIFFORD M.N., NOIROT M., 1989.** - La diversité biochimique dans les genres *Coffea* et *Psilanthus*. 13^e colloque de l'A.S.I.C Païpa (Colombie), 474-484.
- ANTHONY F., MERCIER J.P., 1987.** - La conservation des ressources génétiques des caféiers africains : la base de données sur les collections de Côte d'Ivoire. 12^e Colloque de l' A.S.I.C Montreux (Suisse), 405-410.
- BERTHAUD J., 1986.** - Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers Africains diploïdes. Thèse de doctorat de l'Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, Edition de l'ORSTOM, collection Travaux et Documents n°188, Paris, 379 p.
- BERTHAUD J., GUILLAUMET J.-L., 1978.**- Les caféiers sauvages de Centrafrique : résultats d'une mission de prospection (Janvier - Février 1975). Café-Cacao-Thé, vol XXII, n°3, 171-175.
- BERTHAUD J., CHARRIER A., 1988.** - Genetic resources of *Coffea*. in "Coffee volume 4, Agronomy"- R.J. Clarke and R. Macrae editor, London and New York, 1-40.
- BERTHOU F., TROUSLOT P., 1977.** - L'analyse du polymorphisme enzymatique dans le genre *Coffea* ; adaptation d'une méthode d'électrophorèse en série ; premiers résultats. 8^e Colloque de l' A.S.I.C, Abidjan, 373-384 (Paris).
- BERTHOU F., TROUSLOT P., HAMON S., VEDEL F., QUETIER F., 1980.** - Analyse en électrophorèse du polymorphisme biochimique des caféiers ; variation enzymatique dans dix-huit populations ; *C. canephora*, *C. eugenioïdes*, et *C. arabica*. Café Cacao Thé, Vol. XXIV, 313-326.
- BONTEMS S., 1990.** - La diversité isoenzymatique de 26 populations de nouveaux caféiers d'Afrique centrale. Rapport ORSTOM, Montpellier, 26 p.
- BRIDSON D., 1982.** - Studies in *Coffea* and *Psilanthus*. for part 2 of 'Flora of tropical East Africa' : *Rubiacea*. Kew Bulletin, 36, 817-859.

- CHEVALIER A., 1947.** - Les caféiers du globe. III) Systématique des caféiers et faux caféiers. Maladies et insectes nuisibles. Encyclopédie biologique 28. Paul Lechevalier, Paris, 356 p.
- de NAMUR C., ANTHONY F., COUTURON E., SITA P., 1987.** - Résultats d'une mission de prospection de caféiers sauvages du Congo. 12^e Colloque de l' A.S.I.C, Montreux, 397-404.
- LEROY J.F., 1980.** - Evolution et taxogenèse chez les Caféiers. Hypothèses sur leur origine. Comptes rendus de l'Académie des Sciences (Paris), 291, 593-596.
- MALEY J., 1987.** - Fragmentation de la forêt dense humide africaine et extension des biotopes montagnards au Quaternaire récent : nouvelles données polliniques et chronologiques, implications paléoclimatiques et biogéographiques. In Palaeoecology of Africa and surrounding islands, vol.18. J.A. COETZEE éd., A.A.BALKEMA (Rotterdam), 307-334.
- MANES Y., 1988.** - Organisation du complexe multispécifique chez le caféier ; étude de la variabilité de 26 populations appartenant à l'espèce *C. brevipes*. Rapport ORSTOM (Adiopodoumé, Côte d'Ivoire), 37 p.
- SECOND G., TROUSLOT P., 1980.** - Electrophorèse d'enzymes de riz (*Oriza sp.*). Edition de l'ORSTOM, collection Travaux et Documents N°120, Paris, 87 p.

ANNEXE A

Codage des descripteurs architecturaux et foliaires notés en collection.

| DESCRIPTEUR | MODALITES | CODES |
|--|--|----------------------------------|
| PORT | pyramidal, losangique cylindrique, élancé boule, trapu | pt1, pt2 pt3, pt4 pt5, pt6 |
| ENTRE-NOEUD ORTHOTROPE (10 mesures) | court (<45 mm) moyen long (>55 mm) | EN1 EN2 EN3 |
| ENTRE-NOEUD PLAGIOTROPE (10 mesures) | court (<45 mm) moyen long (>55mm) | Ep1 Ep2 Ep3 |
| TAILLE des STIPULES | courte intermédiaire allongée | LS1 LS2 LS3 |
| ARETE des STIPULES | arrondie, pointue | Bs1, Bs2 |
| LONGUEUR MOYENNE du PETIOLE (10 mesures) | court (<45 mm) moyen long (>45 mm) | PE1 PE2 PE3 |
| FORME des FEUILLES | allongée, étroite ovale, ronde | Ff1, Ff2 Ff3, Ff4 |
| TAILLE de l'ACUMEN | nulle, courte moyenne, longue | Lg0, Lg1 Lg2, Lg3 |
| FORME de l'ACUMEN | nulle, rectiligne courbé, ou les deux | Fo0, Fo1 Fo3, Fo4 |
| EXTREMITE de l'ACUMEN | ronde, pointue | Bo1, Bo2 |

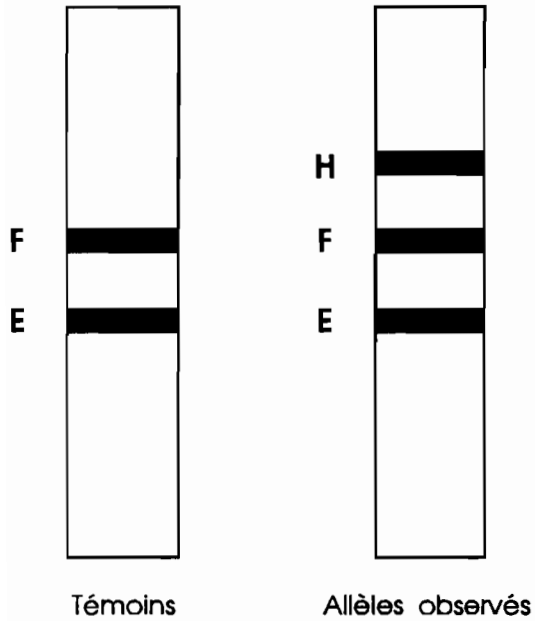
ANNEXE A (suite)

| DESCRIPTEUR | MODALITES | CODES |
|---------------------------------|---|-------------------------------|
| PROFIL des FEUILLES | plan, un peu ou en V | Pr1, Pr2, Pr3 |
| MARGE FOLIAIRE | plane, ondulée très ondulée, gaufrée | Mg1, Mg2 Mg3, Mg4 |
| COULEUR des JEUNES FEUILLES | absence JF verte, intermédiaire anthocyanée très anthocyanée | CL0 CL1, CL2 CL3 CL4 |
| COULEUR des FEUILLES ADULTES | vert clair vert foncé | Ca1 Ca2 |
| TEXTURE des FEUILLES | papyracée, mince coriace, très coriace | TE1, TE2 TE3, TE4 |
| ASPECT des FEUILLES | brillant, mat | AS1, AS2 |
| NERVATION SECONDAIRE | discrète, moyenne prononcée | NE1, NE2 NE3 |
| NERVATION TERTIAIRE | non ou peu visible saillante | Nt1, Nt2v Nt3 |
| DOMATIES (face supérieure) | non visibles, un peu ou très saillantes | SD1, SD2 SD3 |
| DOMATIES (face inférieure) | non visibles, un peu, moyennement ou très saillantes | Si1, Si2 Si3 Si4 |
| DOMATIES (pilosité) | absente, pileuse , glabre | Pi0, Pi1 Pi2 |
| DOMATIES (taille) | absente, étroite, large | Dm0 Dm1, Dm2 |

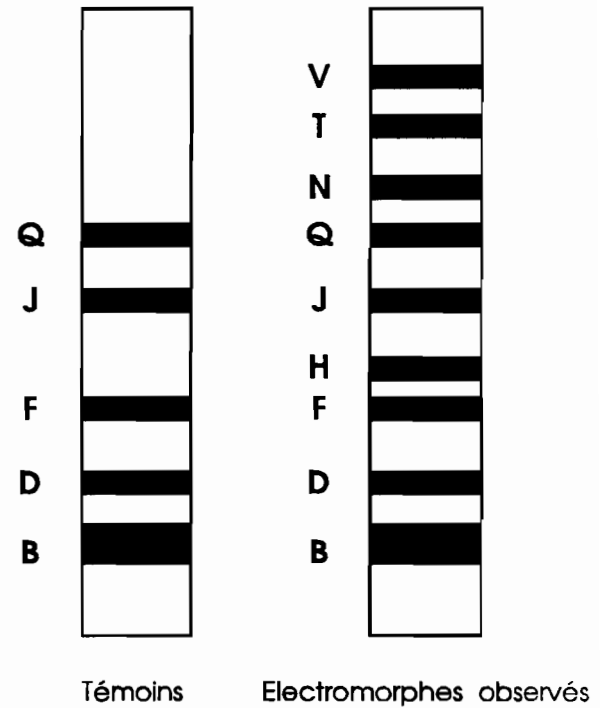
ANNEXE B :

Codage des bandes observées sur les zymogrammes des systèmes :

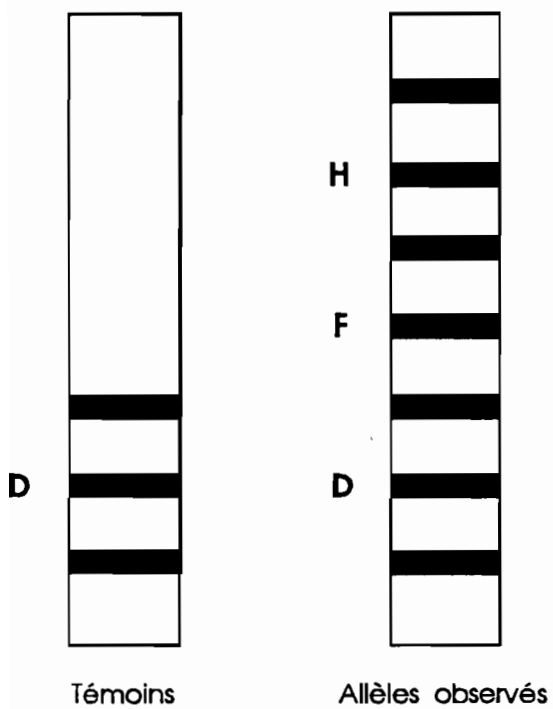
EST (locus ESTA3)



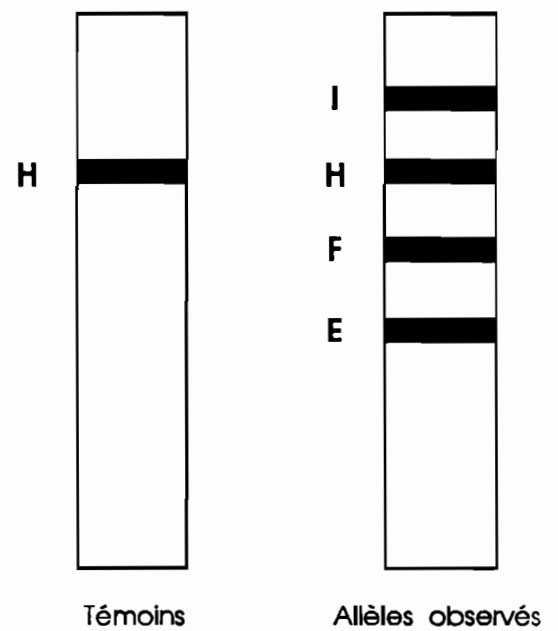
MDH



PGI (locus PGI1)

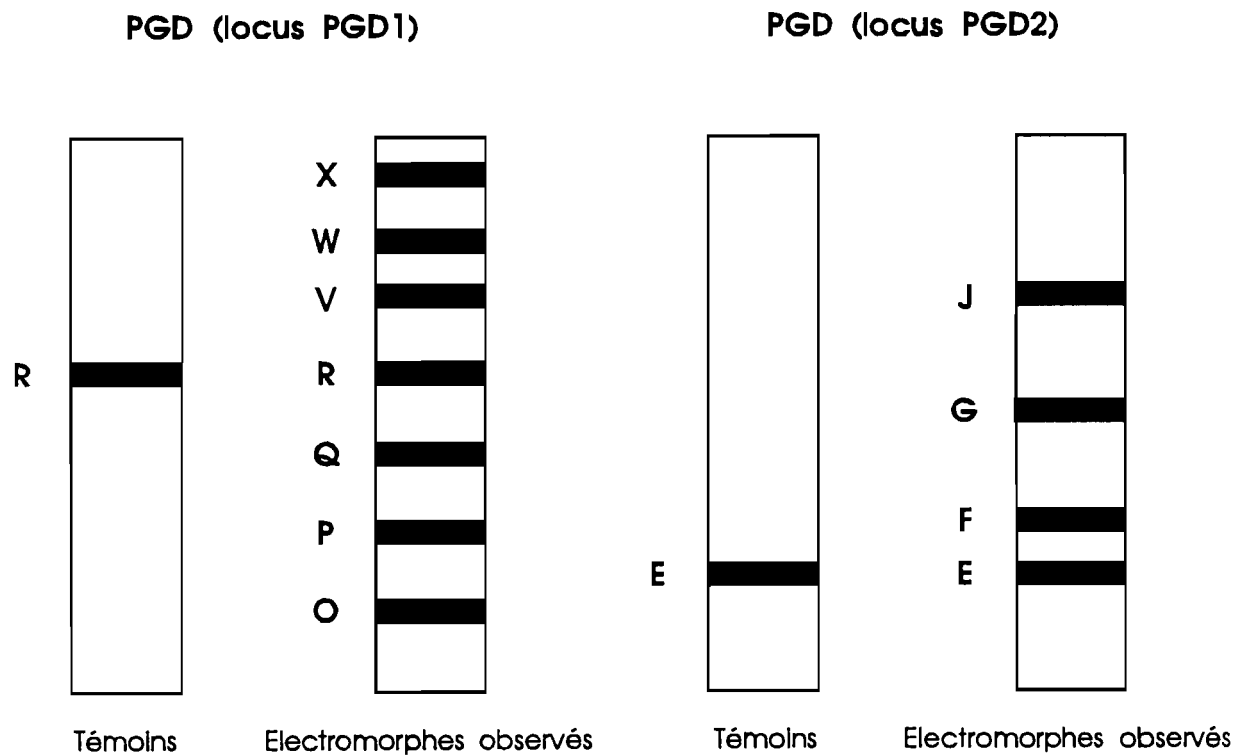
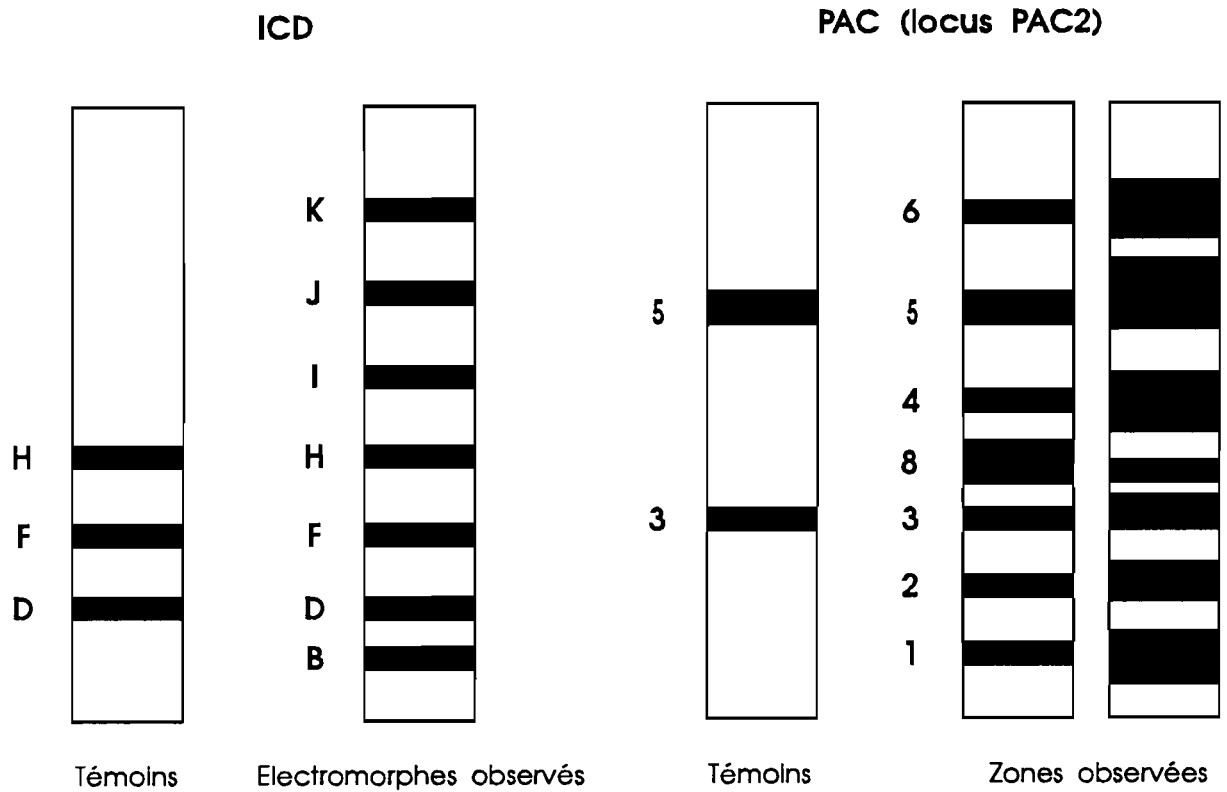


PGM (locus PGM2)



ANNEXE B (suite) :

Codage des bandes observées sur les zymogrammes des systèmes :



ANNEXE C

Masse, contribution absolue (CA) et relative (CR) des variables (var) expliquant au mieux les axes factoriels, dans l'analyse de la répartition des caractères morphologiques.

| SERIE | AXE 1 | | | | AXE 2 | | | |
|---------------------------|------------|-------|-------|-------|------------|-------|-------|-------|
| | var | masse | CA | CR | var | masse | CA | CR |
| n=25 32 var actives | <u>AS1</u> | 0,015 | 16,09 | 72,47 | <u>Pi2</u> | 0,020 | 28,17 | 82,33 |
| | <u>Mg1</u> | 0,034 | 11,95 | 85,70 | Ca2 | 0,027 | 15,17 | 67,58 |
| | CL1 | 0,036 | 7,52 | 55,39 | <u>Pi1</u> | 0,079 | 6,90 | 81,17 |
| | <u>IE1</u> | 0,052 | 6,47 | 74,98 | Ca1 | 0,073 | 5,70 | 67,52 |
| | EN3 | 0,052 | 6,47 | 64,03 | | | | |
| | <u>CL3</u> | 0,054 | 5,98 | 70,65 | | | | |
| | NE1 | 0,024 | 5,11 | 39,71 | | | | |

en souligné : Variables utilisées dans notre interprétation des axes.

n : Effectif (individus actifs)

ANNEXE D

Fréquences absolues des variables codant les électromorphes du Cameroun et de la Sangha au Congo. En souligné : F=100%.

| POPULATION | CAMEROUN | | | | | | | CONGO (SANGHA) | | | | | | |
|------------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|
| VARIABLE* | 01 | 05 | 07 | 11 | 27 | 28 | 29 | 06 | 08 | 13 | 15 | 17 | 21 | 22 |
| PGD1-R | 0 | 25 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 7 | 0 | 0 | <u>1</u> | 5 |
| PGD1-V | 0 | 23 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 4 | 0 | 0 | <u>1</u> | 5 |
| PGD1-W | <u>1</u> | 46 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | <u>3</u> | 5 | 0 | 0 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| PGD1-X | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 0 | <u>1</u> | <u>45</u> | 0 | 0 |
| PGD2-E | <u>1</u> | <u>63</u> | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>3</u> | <u>11</u> | 0 | 0 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| PGD2-F | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| PGD2-G | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 0 | <u>2</u> | <u>45</u> | 0 | 0 |
| PGI-D | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 10 | <u>2</u> | <u>45</u> | 0 | 0 |
| PGI-F | <u>1</u> | <u>63</u> | <u>4</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>3</u> | 5 | 0 | 0 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| PGI-H | <u>1</u> | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| PGM-D | 0 | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| PGM-E | 0 | 43 | 2 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| PGM-F | <u>1</u> | 35 | <u>4</u> | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 9 | <u>2</u> | <u>45</u> | <u>1</u> | <u>7</u> |
| PGM-H | <u>1</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| EST-E | 0 | 17 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | <u>4</u> | 2 | 0 | <u>2</u> | 0 | 0 | 6 |
| EST-F | <u>1</u> | 46 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | <u>11</u> | 0 | 1 | <u>1</u> | 5 |
| EST-H | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>27</u> | 0 | 0 |
| ICD-E | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ICD-D | 0 | 7 | 0 | <u>6</u> | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>3</u> | <u>11</u> | 0 | 0 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| ICD-F | <u>1</u> | 48 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>3</u> | <u>11</u> | 0 | 0 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| ICD-H | <u>1</u> | 24 | 2 | <u>6</u> | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 0 | <u>2</u> | <u>45</u> | 0 | 0 |
| ICD-I | 0 | 20 | 3 | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 0 | <u>2</u> | <u>45</u> | 0 | 0 |
| ICD-J | 0 | 8 | <u>4</u> | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 0 | <u>2</u> | <u>45</u> | 0 | 0 |
| ICD-K | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MDH-B | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MDH-D | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MDH-F | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MDH-H | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MDH-J | <u>1</u> | 54 | 4 | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | <u>5</u> | <u>3</u> | <u>11</u> | <u>2</u> | 43 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| MDH-N | <u>1</u> | 54 | 4 | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | <u>5</u> | <u>3</u> | <u>11</u> | <u>2</u> | 43 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| MDH-T | <u>1</u> | 54 | 4 | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | <u>5</u> | <u>3</u> | <u>11</u> | <u>2</u> | 43 | <u>1</u> | <u>7</u> |
| PAC-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>1</u> | <u>2</u> | 0 | 0 | 0 | <u>2</u> | 44 | 0 | 0 |
| PAC-3 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| PAC-4 | 0 | <u>58</u> | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | <u>1</u> | 3 |
| PAC-5 | <u>1</u> | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | <u>5</u> | <u>3</u> | <u>11</u> | 0 | 0 | <u>1</u> | 4 |
| PAC-8 | 0 | 0 | 0 | <u>6</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

* : les variables PGD1-O, PGD1-P, PGD1-Q, PGD2-J, PGM-I, MDH-V, PAC-2 et PAC-6 ne sont pas représentées dans ces populations.

ANNEXE D (suite)

Fréquences absolues des variables codant les électromorphes du Chaillu et du Mayombe au Congo. En souligné : F = 100%

| POPULATION | CONGO (CHAILLU) | | | CONGO (MAYOMBE) | | | | | | | | | |
|------------|-----------------|-----------|-----------|-----------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--|
| | 23 | 29 | 32 | 36 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 44 | 45 | 46 | |
| PGD1-O | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| PGD1-P | 0 | 0 | 0 | 26 | 1 | 2 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| PGD1-Q | 0 | 0 | 0 | 15 | 2 | 2 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| PGD1-R | 1 | 25 | <u>12</u> | 26 | 5 | 3 | 12 | <u>16</u> | <u>45</u> | <u>40</u> | 59 | <u>38</u> | |
| PGD1-V | 1 | 11 | 3 | 4 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 28 | 6 | |
| PGD1-W | 1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 29 | 1 | |
| PGD2-E | <u>2</u> | <u>32</u> | <u>12</u> | 18 | 3 | 1 | 10 | <u>17</u> | <u>45</u> | <u>42</u> | 82 | <u>38</u> | |
| PGD2-F | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 15 | |
| PGD2-G | 0 | 0 | 0 | 12 | 1 | 1 | 5 | 0 | 0 | 0 | 39 | 4 | |
| PGD2-J | 0 | 0 | 0 | 33 | 6 | <u>4</u> | 14 | 0 | 0 | 0 | 38 | 0 | |
| PGI-D | 1 | 0 | 0 | 14 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| PGI-F | <u>2</u> | <u>30</u> | <u>12</u> | <u>33</u> | <u>7</u> | <u>4</u> | <u>16</u> | <u>17</u> | <u>45</u> | <u>42</u> | <u>86</u> | <u>38</u> | |
| PGI-H | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 6 | |
| PGM-D | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | |
| PGM-E | 0 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 1 | 1 | 2 | 13 | 9 | 24 | |
| PGM-F | 1 | 22 | 11 | 32 | <u>7</u> | <u>5</u> | 14 | 15 | 37 | 35 | 79 | 34 | |
| PGM-H | <u>2</u> | 23 | 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 11 | 19 | 10 | 0 | |
| PGM-I | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 8 | 9 | 0 | |
| EST-E | 0 | 4 | 2 | 4 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 7 | 8 | |
| EST-F | 1 | <u>31</u> | 9 | 30 | 5 | <u>5</u> | <u>16</u> | 1 | 3 | 7 | 78 | 28 | |
| EST-H | 0 | 1 | 10 | 1 | 2 | 0 | 0 | <u>16</u> | <u>45</u> | <u>40</u> | 16 | 11 | |
| ICD-D | <u>2</u> | 29 | <u>12</u> | 1 | 0 | 0 | 0 | <u>17</u> | <u>45</u> | 37 | 1 | 0 | |
| ICD-F | <u>2</u> | 28 | <u>12</u> | <u>34</u> | <u>7</u> | <u>5</u> | <u>16</u> | <u>17</u> | <u>45</u> | <u>42</u> | <u>86</u> | 35 | |
| ICD-H | 1 | 2 | 0 | 33 | <u>7</u> | <u>5</u> | <u>16</u> | 1 | 1 | 13 | 85 | 36 | |
| ICD-I | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| ICD-J | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| MDH-D | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| MDH-F | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| MDH-J | <u>2</u> | <u>11</u> | <u>11</u> | <u>20</u> | <u>6</u> | <u>5</u> | 12 | <u>11</u> | 35 | <u>22</u> | <u>50</u> | <u>27</u> | |
| MDH-N | <u>2</u> | <u>11</u> | <u>11</u> | <u>20</u> | <u>6</u> | <u>5</u> | 12 | <u>11</u> | 35 | <u>22</u> | <u>50</u> | <u>27</u> | |
| MDH-T | <u>2</u> | <u>11</u> | <u>11</u> | <u>20</u> | <u>6</u> | <u>5</u> | 12 | <u>11</u> | 35 | <u>22</u> | <u>50</u> | <u>27</u> | |
| MDH-V | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| PAC-2 | 0 | 0 | 0 | 19 | <u>7</u> | 4 | <u>12</u> | 0 | 0 | 0 | 6 | 4 | |
| PAC-3 | 0 | 1 | 0 | 9 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 32 | 12 | |
| PAC-4 | 0 | 18 | 4 | 7 | 0 | 0 | 0 | 6 | 4 | 31 | 33 | 26 | |
| PAC-5 | <u>2</u> | 14 | 7 | 2 | 0 | 0 | 0 | 10 | 22 | 22 | 33 | 7 | |
| PAC-6 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 16 | 0 | 1 | 0 | |
| PAC-8 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

* : les variables PGD1-X, ICD-E, ICD-K, MDH-B, MDH-H, et PAC-1 ne sont pas représentées dans ces populations.

ANNEXE E

Masse, contribution absolue (CA) et relative (CR) des variables (var) expliquant au mieux les axes factoriels, dans l'étude du polymorphisme enzymatique.

| SERIE AFC | AXE 1 | | | | AXE 2 | | | |
|--------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | var | masse | CA | CR | var | masse | CA | CR |
| n=162 | PGDW | 0,019 | 23,32 | 53,55 | PGME | 0,013 | 37,96 | 54,20 |
| 17 var | ESTE | 0,012 | 17,40 | 36,10 | PAC6 | 0,013 | 31,28 | 38,96 |
| actives | <u>ESTH</u> | 0,077 | 14,62 | 75,60 | PAC4 | 0,048 | 24,37 | 52,72 |

en souligné : Variables utilisées dans notre interprétation des axes.

n : Effectif (individus actifs)

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| SOMMAIRE | 3 |
| RESUME | 4 |
| INTRODUCTION | 5 |
| MATERIEL VEGETAL ET DEMARCHE EXPERIMENTALE | 7 |
| I) <u>Matériel végétal</u> | 7 |
| II) <u>Méthodes d'étude</u> | 7 |
| 1) Etude de la variabilité morphologique | 10 |
| Les descripteurs utilisés | 10 |
| Codage des données | 10 |
| 2) Etude du polymorphisme enzymatique | 10 |
| Description de la technique d'électrophorèse..... | 10 |
| Codage des données | 11 |
| 3) Analyse des données | 12 |

| | | |
|--|-------|-----------|
| RESULTATS | | 14 |
| I) <u>Etude de le diversité mopho-physiologiques</u> | | 14 |
| 1) Analyse des descripteurs morphologiques | | 14 |
| 2) Caractérisation des taxons | | 16 |
| II) <u>Etude du polymorphisme enzymatique</u> | | 17 |
| 1) Caractérisation des différents taxons | | 17 |
| 2) Structure de la variabilité à l'intérieur des taxons | | 20 |
| | | |
| DISCUSSION | | 22 |
| I) Diversité observée entre les taxons | | 22 |
| II) Structure de la variabilité à l'intérieur des taxons | | 23 |
| III) Origine de la diversité | | 24 |
| IV) Perspectives d'études | | 25 |
| | | |
| CONCLUSION GENERALE | | 27 |
| | | |
| BIBLIOGRAPHIE | | 28 |
| | | |
| ANNEXES | | 30 |