



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

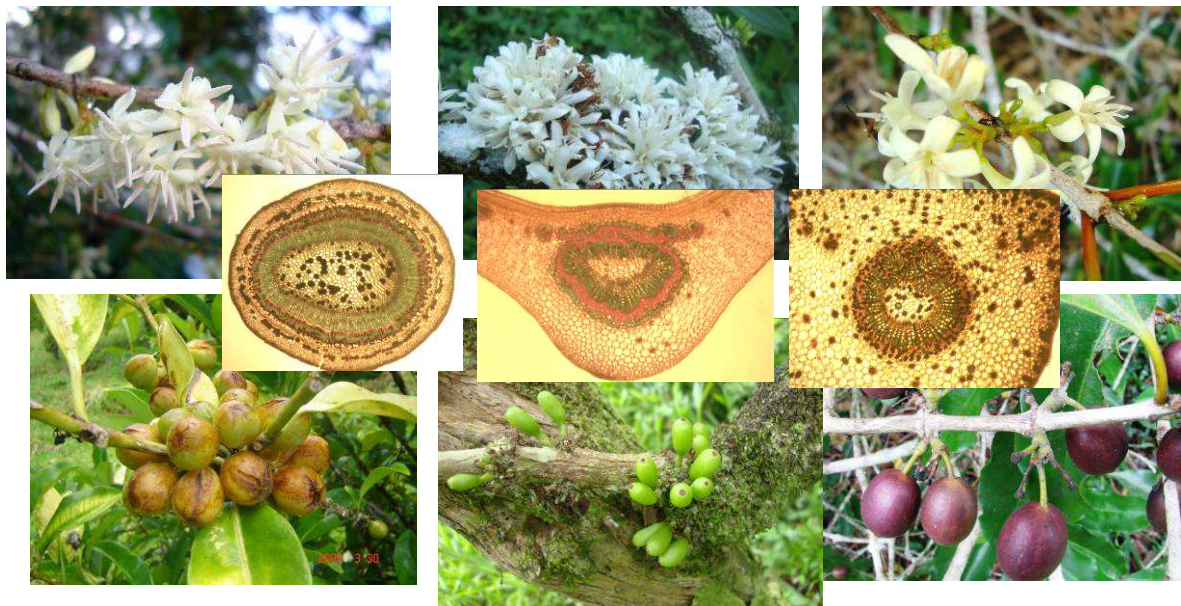
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE et ECOLOGIE VEGETALES

MEMOIRE DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES (DEA)

OPTION : ECOLOGIE VEGETALE

ANATOMIE DES APPAREILS VEGETATIFS DE DIX HUIT ESPECES DE CAFEIERS SAUVAGES ENDEMIQUES DE MADAGASCAR



Présenté par : **RANAIVOARIMANANA Mamisoa Esther**

Soutenu le 29 juin 2011 devant la commission d'examen :

Président : Pr. RAKOTOARIMANANA Vonjison

Rapporteurs : Pr. RAKOUTH Bakolimalala

Dr. RAKOTOMALALA Jean Jacques

Examineur : Dr. FALINIAINA Lucien

Remerciements

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au laboratoire du département de la Biologie Végétale, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar. J'ai bénéficié des collections vivantes de caféiers de la station FOFIFA de Kianjavato, Madagascar. J'ai également profité de l'expérience de nombreuses autres personnes. Vous tous, directeurs, chercheurs, enseignants, techniciens et autre personnel êtes donc un peu les parents de ce document et je vous en remercie.

Ma profonde gratitude s'adresse également au Professeur Rakouth Bakolimalala et au Docteur Rakotomalala Jean Jacques qui ont suivi ce travail de très près, ainsi qu'au Professeur RAKOTOARIMANANA Vonjison (Président de jury) et au Docteur Faliniaina Lucien (Examineur) qui ont accepté de le juger malgré leurs nombreuses responsabilités. Perla Hamon de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) a beaucoup contribué à l'accomplissement de ce travail, qu'elle soit assurée de ma sincère reconnaissance.

A toute ma famille et mes ami(e)s pour leur critique et leur soutien.

MISAOTRA BETSAKA, SAMY HO TAHIAN'ANDRIAMANITRA.

Mamisoa

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	i
Liste des cartes.....	iv
Listes des figures.....	iv
Liste des tableaux.....	iv
Liste des photos.....	v
Listes des graphes.....	vi
Listes des annexes.....	vi
Glossaire	vii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I: GENERALITES	4
I. 1. Collection vivante de Kianjavato.....	4
I. 2. Caractères généraux des caféiers	6
I. 3. Systématique des caféiers.....	7
 CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES.....	 10
II. 1. Matériels d'étude	10
II. 2. Méthodes	14
II. 2. 1. Récolte des échantillons	14
II. 2. 2. Etude anatomique	14
II. 2. 2.1. Coupes et coloration	14
II. 2. 2. 2. Clarification	15
II. 2. 2. 3. Etude histologique	16
II. 2. 2. 4. Description anatomique	16
II. 2.2.5. Empreinte de stomates.....	17
II.2. 2. 6. Etablissement de fiche de description anatomique.....	17
II. 2. 3. Traitement des données	18
II. 2. 3. 1. Analyse des variables qualitatives.....	18
II. 2. 3. 2. Analyse d'une variable quantitative : la densité des stomates.....	18

LISTE DES CARTES

Carte n°1 : Localisation de la station de Kianjavato (source : ONE 2006)	5
Carte n°2 : Distribution géographique des 27 taxa étudiés (source fond de carte : http://www.kew.org/gis/projects/mad_veg/form.html , Mars 2011).....	13

LISTE DES FIGURES

Figure n°1 : Structure du fruit et de la graine du caféier	6
Figure n°2 : Différents niveaux de coupes transversales	15
Figure n°3 : Coupe transversale au niveau de la tige jeune	20
Figure n°4: Coupe transversale de tige avec un sclérenchyme continu	23
Figure n°5: Coupe transversale de tige avec un sclérenchyme discontinu	23
Figure n°6 : Coupe transversale de tige avec une couche de fibre phloemienne	24
Figure n°7: Coupe transversale de tige sans couche de fibre phloemienne	24
Figure n°8 : Coupe transversale d'une feuille	25
Figure n°9 : Coupe transversale d'une feuille avec un faisceau vasculaire en stèle continue arrondie	29
Figure n°10 : Coupe transversale d'une feuille avec un faisceau vasculaire fermé triangulaire	29
Figure n°11 : Coupe transversale d'une feuille avec un faisceau vasculaire en stèle évasée	29
Figure n°12 : Coupe transversale d'une feuille avec un faisceau vasculaire en arc ouvert aux extrémités incurvées	30
Figure n°13 : Stomate de type paracytique	31
Figure n°14 : Stomate de type anomocytique	31
Figure n°15 : Stomate de type tetracytique	31
Figure n°16 : Nervures secondaires brochidodromes	32
Figure n°17 : Dendrogramme des populations par la Classification Ascendante Hiérarchique des variables de la tige	37
Figure n°18 : Dendrogramme des populations par la Classification Ascendante Hiérarchique des variables des feuilles	39
Figure n°19 : Dendrogramme des populations par la Classification Ascendante Hiérarchique des variables du pétiole	40
Figure n°20 : Dendrogramme des populations par la Classification Ascendante Hiérarchique des variables tige, feuille et pétiole	42

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Caractéristiques des séries botaniques de <i>Mascarocoffea</i> (Charrier 1978)	9
Tableau II : Liste des herbiers	10
Tableau III: Liste des 27 taxa étudiés repartis en 18 espèces et 5 séries botaniques	13

Tableau IV : Analyse de variance de la densité des stomates	43
Tableau V : Comparaison multiple des moyennes des densités des stomates en fonction des populations	44
Tableau VI : Estimation des parts de la variation de la densité pour chaque population	44
Tableau VII : Résultats des analyses biochimiques (Rakotomalala, 1993) combinés au caractère morphologique : type de stomates	57

LISTE DES PHOTOS

Photo n°1 : Coupe transversale de la tige de <i>Coffea</i> sp A 955	20
Photo n°2 : Coupe transversale d'une tige avec poils unicellulaires chez <i>C. heimii</i>	21
Photo n°3 : 2 à 4 couches de collenchyme annulaire (CA) et 6 à 8 couches de parenchyme cortical (PC) chez <i>C. kianjavatensis</i> A 213	22
Photo n°4 : Coupe transversale d'une tige avec un sclérenchyme continu chez <i>C. bertrandii</i> A 5	23
Photo n°5: Coupe transversale d'une tige avec un sclérenchyme discontinu chez <i>C. richardii</i> A 575.	23
Photo n°6 : Coupe transversale d'une tige avec une couche de fibre phloemienne chez <i>C. sakaraha</i>	24
Photo n°7 : Coupe transversale d'une tige sans fibre phloemienne chez <i>C. lancifolia</i>	24
Photo n°8 : Coupe transversale d'une feuille au niveau de la nervure principale et du mésophylle chez <i>C. richardii</i> A 575	25
Photo n°9 : Coupe transversale d'une feuille montrant la cuticule épaisse, le collenchyme annulaire, les cellules épidermiques supérieures de taille variable chez <i>C. kianjavatensis</i> A 602	26
Photo n°10 : Coupe transversale d'une feuille avec une crypte pilifère chez <i>C. dubardii</i> A 36	26
Photo n°11 : Coupe transversale d'une feuille avec un parenchyme palissadique unisériel U chez <i>C. kianjavatensis</i>	27
Photo n°12 : Coupe transversale d'une feuille avec un parenchyme palissadique bisériel B chez <i>C. perrieri</i>	27
Photo n°13 : Parenchyme lacuneux chez <i>C. farafanganensis</i>	27
Photo n°14: Coupe transversale d' une feuille avec des sclérites dans le mésophylle chez <i>Coffea</i> sp A 904	28
Photo n°15: Faisceau vasculaire en stèle continue et arrondie chez <i>C. mangorensis</i>	29
Photo n°16: Faisceau vasculaire fermé triangulaire chez <i>C. richardii</i>	29
Photo n°17 : Faisceau vasculaire en stèle évasée chez <i>Coffea</i> sp A 904.....	29
Photo n°18: Faisceau vasculaire en arc aux extrémités incurvées chez <i>C. millotii</i>	30
Photo n°19: Cellules épidermiques à paroi polygonale chez <i>Coffea</i> sp A 315	30
Photo n°20: Cellules épidermiques à paroi sinueuse chez <i>C. heimii</i>	30
Photo n°21 : Stomate de type paracytique chez <i>Coffea</i> sp A 315	31

Photo n°22: Stomate de type anomocytique chez <i>C. farafanganensis</i>	31
Photo n°23: Stomate tetracytique à paroi rectiligne chez <i>C. sakaraha</i>	31
Photo n°24: Coupe transversale du pétiole montrant les tissus vasculaires chez <i>C. sambavensis</i>	32
Photo n°25: Stèle ouverte dans la partie proximale du pétiole chez <i>C. alaotrensis</i>	34
Photo n°26: Stèle fermée arrondi dans la partie distale du pétiole chez <i>Coffea</i> sp A315.....	34
Photo n°27 : Stèle fermée avec 2 faisceaux libéro-ligneux latéraux dans la partie proximale du pétiole chez <i>C. perrieri</i>	34
Photo n°28 : Stèle fermée arrondie dans la partie distale du pétiole chez <i>C. perrieri</i> A 12	34
Photo n°29: Stèle fermée et arrondie avec une plaque dorsale dans la partie proximale du pétiole chez <i>C. richardii</i>	34
Photo n°30: Stèle fermée triangulaire avec une plaque dorsale dans la partie distale chez <i>C. richardii</i>	34
Photo n°31: Partie proximale et distale en arc aux extrémités incurvées chez <i>C. millotii</i>	35

LISTE DES GRAPHES

Graphe n°1 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'Analyse Factorielle des Correspondances sur les caractères anatomiques de la tige	35
Graphe n°2 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'Analyse Factorielle des Correspondances sur les caractères anatomiques des feuilles	37
Graphe n°3 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'Analyse Factorielle des Correspondances sur les caractères anatomiques des pétioles	39
Graphe n°4 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'Analyse Factorielle des Correspondances sur les caractères anatomiques des tiges, feuilles et pétioles	41

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Classification en 5 series botaniques des taxa étudiés avec leur distribution géographique et quelques caractères morphologiques et phenologiques	60
Annexe 2 : Description des variables de la tige	62
Annexe 3 : Description des variables de la feuille	64
Annexe 4 : Description des variables du pétiole	67
Annexe 5 : Table de coefficient de corrélation.....	69
Annexe 6 :Modèle mathématique pour la décomposition de la variance (cas d'un modèle complètement hiérarchisé mixte)	69
Annexe 7 : Schéma de la biosynthèse des acides hydroxycinnamiques (d'après Gross, 1981, modifié par Rakotomalala, 1993)	71
Annexe 8 : Listes des caractères observés	72

GLOSSAIRE

Section botanique : Regroupement botanique, créé par Chevalier (1947) sur les caféiers connus à son époque en fonction de leur répartition géographique ; ne fait pas partie du système de classification internationale.

Série botanique : Regroupement botanique, proposé par Chevalier (1947) sur les caféiers spontanés des îles Mascareignes et de Madagascar, en fonction de leurs caractères morphologiques et phénologiques ; ne fait pas partie du système de classification internationale.

Accession : Groupe d'individus issus d'une même provenance, rassemblés en collection.

Espèce : Populations ou ensemble de populations dont les individus peuvent effectivement ou potentiellement se reproduire entre eux et engendrer une descendance viable et féconde dans des conditions naturelles.

Espèce phénétique : Ensemble d'organismes vivants se ressemblant (morphologique, anatomique, embryologique) plus entre eux qu'à d'autres ensembles équivalents.

Monophylétique : Caractéristique d'un groupe d'espèces « clade » constitué d'un ancêtre et de tous ses descendants.

Taxon : Entité conceptuelle qui est censée regrouper tous les organismes vivants possédant en commun certains caractères taxinomiques ou diagnostiques bien définis.

Graine récalcitrante : Graine dont la teneur en eau est très élevée, ne supporte pas la dessiccation et la conservation au froid, ne peuvent être stockées trop longtemps.

Phylogénie : Etude des parentés entre différents êtres vivants en vue de comprendre l'évolution des organismes vivants. Sa représentation est l'arbre phylogénétique.

Population : Ensemble d'individus de la même espèce, vivant dans un même biotope, ces individus ont un lien génétique.

Nervures brochydromeuses: Les nervures secondaires n'atteignent pas le bord de la feuille mais se rejoignent entre elles vers le bord en formant une série d'arcs proéminents.

Stomate paracytique: Les cellules de garde sont accompagnées par 2 ou plusieurs cellules accessoires localisées de chaque côté des cellules de garde et parallèlement à leur grand axe.

Stomate anomocytaire: Les cellules de garde sont entourées par un nombre limité de cellules épidermiques qui ne se distinguent ni par la taille ni par la forme, il n'y a pas de cellules accessoires.

Stomate tetracytaire: Les cellules de garde sont entourées par 4 cellules accessoires dont 2 en position latérale et 2 en position terminale.

INTRODUCTION

La présence de nombreuses formes primitives de la flore malgache actuelle et le fort taux d'endémisme ont été attribués à l'isolement de l'île et à la mise en place avant cet isolement d'un stock ancien qui se serait diversifié par la suite pour donner les espèces actuelles (Koechlin *et al.*, 1974). Malgré la richesse extraordinaire de l'île, la connaissance de cette flore malgache doit être encore considérée comme fragmentaire (Morat & Lowry, 1993). Plus de 40 familles, représentées par plus de 3000 espèces, sont encore à traiter ou à réviser dont une partie de la famille des Rubiaceae à laquelle appartiennent les *Mascarocoffea* (Chevalier, 1938), objets de notre étude.

Les *Mascarocoffea* sont connus pour la grande diversité de leurs caractères morphophysiologiques (Charrier, 1978). Ces caféiers sauvages se différencient des caféiers cultivés, non seulement par l'absence ou la présence exceptionnelle de caféine (Bertrand, 1902 ; d'Ornano *et al.*, 1967a et b, Clifford *et al.*, 1991) et d'autres méthylxanthines (Rakotomalala, 1993), mais aussi par la présence de composés responsables de l'amertume (Chassevent *et al.*, 1967 ; d'Ornano *et al.*, 1967a et b ; Ducruix *et al.*, 1977) attribués à des hétérosides diterpéniques (Bertrand, 1902 ; Chassevent *et al.*, 1967). Cette amertume rend inconsommable les graines des *Mascarocoffea* selon Charrier (1973). Le contenu chimique des graines des *Mascarocoffea* diffère par ailleurs d'un taxon à l'autre (Rakotomalala, 1993 ; Rakotondravao, 2001). A titre indicatif, en plus des composés énumérés plus haut, on peut citer les acides hydroxycinnamiques rares qu'on ne trouve que dans les graines des *Mascarocoffea* comme les acides *o*-coumarique, sinapique, *p*-méthoxycinnamique, 4-5 diméthoxycinnamique et 3-4-5 triméthoxycinnamique, (Rakotomalala, 1993 ; Campa *et al.*, 2008).

Cette variabilité pourrait résulter de l'adaptation évolutive à des milieux naturels contrastés dans lesquels ont évolué les caféiers sauvages dans la région malgache au cours des temps géologiques. La diversification morphologique pourrait être liée au milieu physique très accidenté et aux nombreux microclimats présents sur la grande île.

Des études récentes sur la phylogénie moléculaire effectuée par Maurin *et al.* (2007) en vue d'établir les relations phylogénétiques entre les espèces du genre *Coffea* ont conduit à des arbres non résolus. Ceci est particulièrement notable pour les *Mascarocoffea*. Les relations phylogénétiques au sein de cette section ne sont donc pas élucidées. Ce résultat indique que :

- Les marqueurs utilisés pour établir cette phylogénie ne sont peut être pas appropriés ;

- La spéciation au sein du genre serait trop récente et nécessite l'utilisation de marqueurs à évolution plus rapide que ceux utilisés. Quoiqu'il en soit, ce résultat conforte les observations de Charrier (1978) à savoir : « Est-ce que cette diversité morphologique correspond à une vraie spéciation ou simplement à des populations de la même espèce mais qui se sont adaptées à des conditions différentes et ont par la suite acquis/développé des morphologies différentes ? ».

Les relations systématiques entre les espèces de Caféiers et la position systématique du genre *Coffea* à l'intérieur de la famille Rubiaceae restent ainsi mal comprises et les études réalisées sur la plupart d'entre elles demeurent fragmentaires même si plus d'une centaine d'espèces de caféiers ont été dénombrées dans le monde (Davis *et al.*, 2006). La systématique du complexe d'espèces des caféiers est loin d'être parfaitement établie. La découverte récente de nombreux taxa nouveaux, présentant des caractères morphologiques très diversifiés, perturbe les regroupements anciens établis par les botanistes.

Les études anatomiques représentent un outil efficace aussi bien dans les identifications des fragments d'échantillons que dans l'étude des relations entre taxa au sein d'un genre ou d'un rang taxinomique plus élevé (Metcalf et Chalk, 1950). L'étude des appareils végétatifs des angiospermes est très utile pour la taxonomie. Les caractères anatomiques ont été utilisés depuis plus d'un siècle maintenant à des fins systématiques et c'est un outil efficace quand il est combiné avec d'autres disciplines. Les caractères anatomiques combinés aux données moléculaires ont contribué à caractériser beaucoup de sous-groupes de la famille des Rubiaceae (Piesschaert *et al.*, 2000 ; Dessein *et al.*, 2001 ; Jansen *et al.*, 2001, 2002). Vèsque (1885) fut le premier à examiner un assez grand nombre de Rubiaceae pour en étudier les caractères anatomiques en particulier les feuilles. Froehner (cité par Beille, 1947) a dressé un tableau dichotomique de huit espèces de caféiers d'après les caractères du tégument séminal. Mariani (1908) a examiné la structure anatomique de la feuille des caféiers. Chevalier (1947) a donné les caractères anatomiques des Rubiacée. Beille (1947) a décrit les caractères anatomiques d'une trentaine de Rubiaceae ligneuses dont des caféiers originaires des îles de l'Océan Indien. Malheureusement, cette étude anatomique n'a été faite pour la section *Mascarocoffea* que sur les caféiers originaires des îles Mascareignes connus à l'époque de Chevalier (1947) et n'a pas encore été effectuée sur les caféiers sauvages décrits actuellement et originaires de Madagascar.

Dans le présent travail, nous nous proposons d'effectuer l'« **étude anatomique de 18 espèces sur les 57 recensées dans la section des *Mascarocoffea*** ». Notre objectif est de contribuer à une meilleure connaissance de la biodiversité des *Mascarocoffea* en répondant aux questions suivantes :

- 1) Y a-t-il des variations de la structure anatomique au sein des *Mascarocoffea* ?
- 2) Est-il possible d'identifier les espèces par leur structure anatomique ?
- 3) Existe-t-il des caractéristiques propres à chaque série botanique ?

CHAPITRE I GENERALITES

I. 1. COLLECTION VIVANTE DE KIANJAVATO

- **Situation géographique**

La commune rurale de Kianjavato se trouve dans la Région de Vatovavy Fitovinany à 125 km de Fianarantsoa, à 75 km de Mananjary et à 12 km à l'Ouest de la montagne de Vatovavy sur la route nationale n°25 (Carte n°1). Elle est située en basse altitude sur la Côte Est. Ses coordonnées géographiques sont de 21° latitude Sud et 48° longitude Est. Le climat y est du type tropical humide.

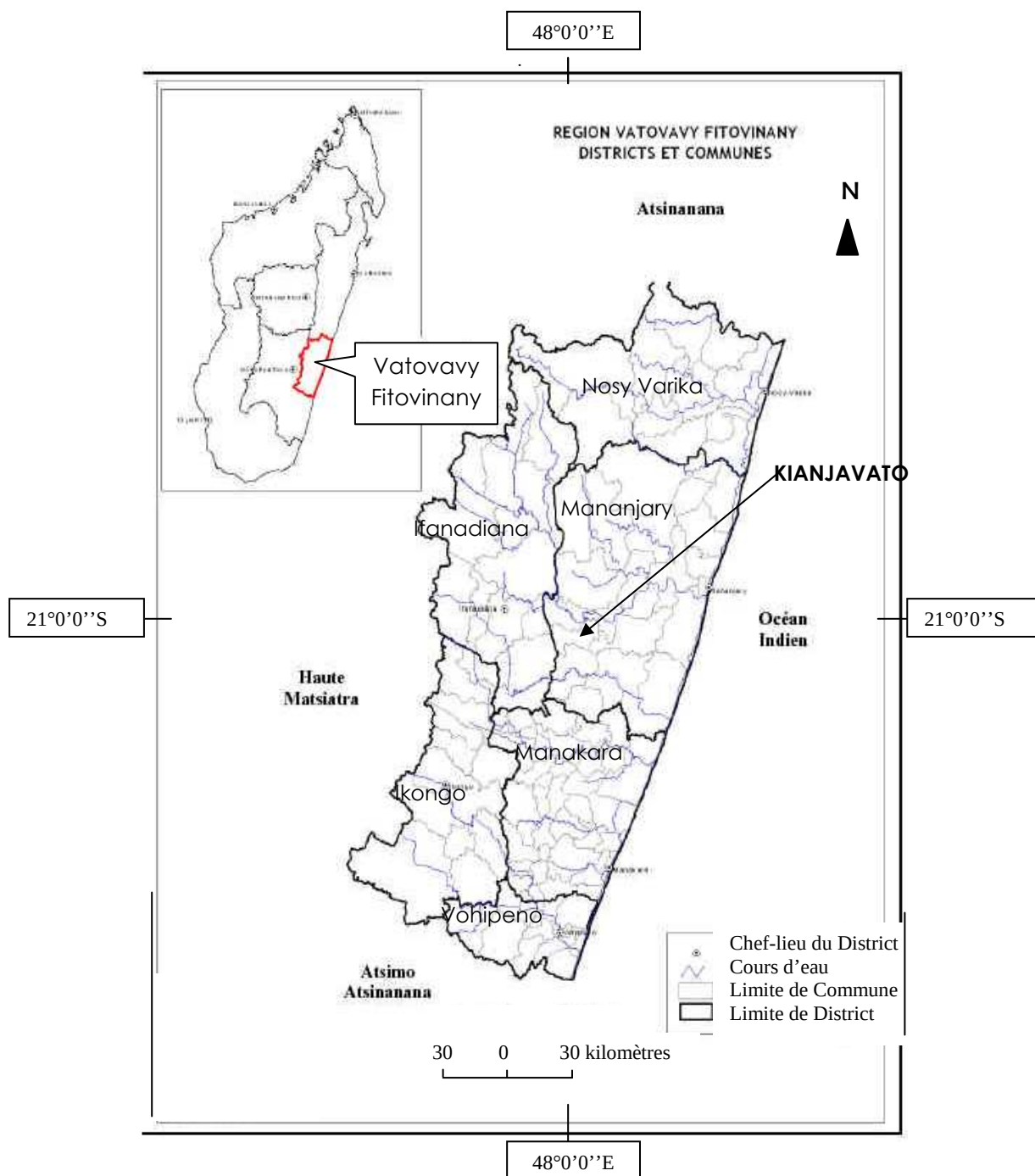
Le climat et les sols y sont favorables aux activités agricoles. La température moyenne annuelle se situe autour de 23°C. La température moyenne du mois le plus chaud (janvier) varie autour de 26°C et celle du mois le plus froid (juillet) est de 20°C. La pluviométrie annuelle est de l'ordre de 2800 mm répartie sur toute l'année. Elle est surtout abondante de Janvier à Avril avec une moyenne de 22 jours de pluie par mois. Elle est moindre de Mai à Octobre mais accuse encore une moyenne de 16 jours de pluie par mois.

- **Historique et activités de la station de Kianjavato**

La station de Kianjavato a été premièrement orientée lors de sa création en 1954 vers la diffusion en milieu rural des meilleurs clones de *Coffea canephora* accompagnée des paquets techniques permettant d'exploiter leur potentiel productif. Puis l'action sur le caféier cultivé *canephora* à Kianjavato a été renforcée par d'autres prospections effectuées dans différentes caféaies de la Côte Est et par des travaux de sélection à la Station d'Ilaka Est (Vatomandry). Tous ces travaux ont abouti à la constitution d'une importante collection de *Coffea canephora* variété "Robusta" et "Kouillou".

Le regroupement des *Mascarocoffea* a été entrepris à partir de 1960. La constitution de la collection vivante a été initiée par Vianney-Liaud (cité par Charrier, 1975) lequel a réussi la domestication et la multiplication du matériel végétal grâce à une grande maîtrise des techniques de reproduction végétative.

Les prospections systématiques de caféiers sylvestres malgaches dans leur site naturel, à partir de l'année 1960, ont été poursuivies durant une décennie et ont permis d'installer à Kianjavato une collection botanique unique au monde. Ceci est d'autant plus remarquable



Carte n°1 : Localisation de la station de Kianjavato (source : ONE 2006)

qu'il s'agit de rassembler sur la zone côtière orientale, des caféiers provenant de régions écologiques fort différentes comme par exemple des espèces d'altitude ou des régions arides.

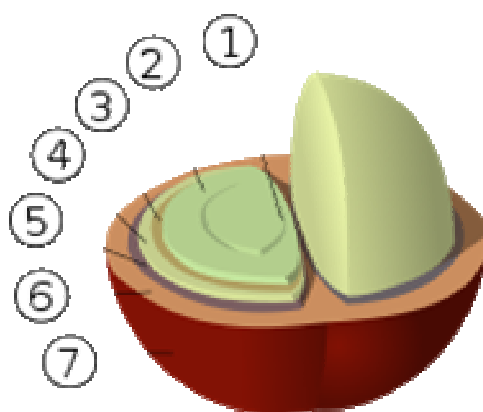
Cette collection, d'une surface de 15 hectares, constitue un patrimoine mondial et présente un revenu scientifique incalculable en ce moment où la destruction irréparable de la forêt par l'action de l'homme (les feux sauvages, les coupes sélectives des caféiers utilisés comme piquets, les défrichements, les Tavy et la dégradation des restes forestiers par les

exploitations du bois et la pratique des feux de savane) devient une réalité de plus en plus préoccupante.

La station de Kianjavato est actuellement devenue un refuge pour des espèces d'animaux rares et endémiques tel *Prolemur simius* ou « varibolo », les chauves-souris à ventouses, les caméléons miniatures, les grenouilles de différentes couleur, les phasmes,... La station préserve également des hybrides variés issus de croisements effectués entre caféiers sauvages et caféiers cultivés.

I. 2. CARACTERES GENERAUX DES CAFEIERS

Les caféiers sont des arbustes de sous-bois à feuilles persistantes et opposées, qui apprécient généralement un certain ombrage. Ils produisent des fruits charnus, de différentes couleurs selon les espèces, à deux noyaux contenant chacun un grain de café (la cerise de caféier est l'exemple d'une drupe polysperme). Lorsqu'on dépulpe une cerise, on trouve le grain de café enfermé dans une coque semi-rigide transparente à l'aspect parcheminé correspondant à la paroi du noyau. Une fois dégagé, le grain de café vert est encore entouré d'une pellicule argentée adhérente correspondant au tégument de la graine. Les caféiers se distinguent par leur placentation dite "cofféenne", caractérisée par la présence d'un sillon, plus ou moins invaginé, dans la partie ventrale de l'albumen des graines (Figure n°1).



Légende

- 1: sillon central
- 2: grain de café (endosperme)
- 3: peau du grain (tégument)
- 4: parchemin (endocarpe)
- 5: couche de pectine
- 6: pulpe (mésocarpe)
- 7: peau du fruit (exocarpe)

Figure n°1 : Structure du fruit et de la graine du caféier

A l'exception de *Coffea arabica*, espèce tétraploïde ($2n=2x=44$ chromosomes) à autogamie prépondérante, tous les autres caféiers sont diploïdes ($2n=2x=22$ chromosomes) et allogames sauf deux espèces : *C. heterocalyx* et *C. anthonyi* respectivement du Cameroun et

du Gabon, qui sont diploïdes et autofériles (Coulibaly *et al.*, 2002 ; Stoffelen *et al.*, 2002). Les dénombrements effectués sur pointes radiculaires par Portères (1962), Friedmann (1970) et Louarn (1972) suivant différentes techniques ont confirmé une totale homogénéité des *Mascarocoffea* : les 34 taxa étudiés ont vingt-deux chromosomes somatiques ($2n = 2x = 22$ chromosomes). Malgré leur grande variabilité phénotypique, il ne semble pas exister de variation au niveau de ploïdie.

I. 3. SYSTEMATIQUE DES CAFEIERS

La famille des Rubiaceae comprend environ 630 genres et 13000 espèces avec une large distribution géographique dans les régions tropicales et subtropicales (Struwe, 2002) ; c'est un groupe monophylétique (Judd *et al.*, 1999) appartenant à l'ordre des Gentianales (Struwe, 2002). Robbrecht (1988) a divisé cette famille en 4 sous-familles en se basant sur des caractères morphologiques. Les études phylogénétiques basées sur des données moléculaires et combinées avec des données morphologiques ont amélioré la classification des Rubiaceae en sous-familles (Bremer *et al.*, 1995 ; Bremer, 1996), tribus (Bremer et Thulin, 1998 ; Rova *et al.*, 2002), genres (Nepokroeff *et al.*, 1999 ; Andersson, 2001), et en espèces (McDowell and Bremer, 1998 ; Persson, 2000). Une de ces améliorations est l'aboutissement d'une nouvelle classification en 3 sous-familles : Rubioideae, Cinchonoideae et Ixoroideae (Bremer *et al.*, 1995 ; Rova *et al.*, 2002) et à la division de la tribu des Coffeeae en 11 genres *Argocoffea*, *Belanophora*, *Calycosiphonia*, *Coffea*, *Diplospora*, *Discospermum*, *Nostolachma*, *Psilanthus*, *Tricalysia*, *Sericanhte* et *Xanthonnea*.

Dans cette tribu des Coffeeae, les espèces sont des arbres ou des arbustes qui portent de petites fleurs odorantes groupées par 4-5 jusqu'à 12. Les ovaires possèdent 2 loges contenant chacune un ovule. Les graines présentent une placentation cofféenne (sillon ventral plus ou moins invaginé, Leroy, 1980).

La structuration du genre *Coffea*, créé par Linné en 1753, a été revue à plusieurs reprises notamment par Lebrun (1941), Chevalier (1947), Leroy (1967), Bridson et Verdcourt (1988), et plus récemment par Davis *et al.* (2006).

Le genre *Coffea*, originaire de la zone forestière intertropicale d'Afrique, de Madagascar et des Mascareignes, compte des espèces cultivées dont les graines produisent le café, premier produit agricole et deuxième produit du commerce mondial en valeur

marchande. D'autres espèces sauvages du même genre présentent des potentialités pour l'amélioration génétique de la production, de la qualité du café et de la résistance aux maladies et ravageurs des caféiers cultivés.

Le genre *Coffea* se divise en deux sous genres : le sous genre *Coffea* et le sous genre *Baracoffea*. Selon leur distribution géographique, le sous genre *Coffea* se répartit en trois sections botaniques :

- Les *Eucoffea* regroupant les caféiers de l'Afrique de l'Ouest et du Centre dont les espèces cultivées *Coffea canephora* Pierre ex Froehner et *Coffea arabica* L. ;
- Les *Mozambicoffea* rassemblant les caféiers spontanés de l'Afrique de l'Est (*C. eugenoides* Moore, *C. racemosa* Lour. et *C. salvatrix* Swynn. et Phil. ;
- Les *Mascarocoffea* qui englobent les caféiers sauvages endémiques de Madagascar, des îles Mascareignes et de l'archipel des Comores.

Les caféiers sauvages malgaches représentent à eux seuls la moitié de la diversité recensée dans le sous genre *Coffea* (57 espèces sur les 103 espèces décrites actuellement, Davis *et al.*, 2006). Originaires de zones géographiques diversifiées allant du Nord au Sud et d'Est en Ouest en passant par le Centre de l'île et de formations forestières contrastées, les caféiers possèdent une très grande diversité morphologique portant sur l'architecture - port et taille de l'arbre, taille et forme des feuilles ainsi que sur la phénologie : cycle de floraison et de fructification et sur la couleur, la forme et la taille des fruits et des grains (jaunes, violacés, prune, rouges, marrons, petits à gros grains). Ils sont caractérisés par l'absence ou, exceptionnellement la présence à très faible teneur (0,7 % MS) de caféine dans leurs graines (Rakotomalala, 1993).

Les *Mascarocoffea* ont été divisées par Chevalier (1947) en huit séries d'après les particularités des feuilles, des fleurs et des fruits de dix-huit espèces décrites à l'époque. L'intensification des prospections des caféiers à Madagascar et l'étude du matériel végétal ont entraîné la description d'une trentaine d'espèces nouvelles par Portères (1962) et Leroy (1961 a, b et d ; 1962 a, b et c; 1972 a et b). Guillaumet (1975) cite une quarantaine d'espèces décrites chez les *Mascarocoffea*. Les études taxonomiques effectuées par Charrier (1978) basées sur l'analyse de la variabilité des caractères morphologiques et par la prise en compte de la phénologie (croissance, floraison et fructification), des caractères agronomiques, technologiques et chimiques, suggèrent une réduction à six, des huit séries botaniques établies

par Chevalier (1947). Le tableau I suivant représentant la classification en 6 séries données par Charrier, synthétise les résultats de ses propres observations.

Tableau I: Caractéristiques des séries botaniques de *Mascarocoffea* (Charrier 1978).

Séries botaniques	Quelques caractéristiques				
	Distribution géographique	feuilles	inflorescences	fruits	Granulométrie
Verae	Domaine de l'Est (plaine côtière de L'est, du Nord au Sud)	Moyennes ou grandes, limbes souple	Uniflores, exceptionnellement pauciflores	Petits à moyens, oblongs à ovoïdes	3 à 6 gramme/100 graines
Multiflorae	Partout à Madagascar mais essentiellement sur la moitié est	Taille variable (10 à 15 cm) coriaces	Pluriflores plus ou moins retombantes	ovoïdes allongés	3 à 8gramme/100graines
Complexe Millotii	Domaine de l'Est (plaine côtière de l'Est, du Nord au Sud)	Moyenne à grandes (10 à 30 cm) épaisses et coriaces	Pluriflores	Forme et taille des prunes	18 à 30 gramme/100 graines
Garcinioïdes	Région du Nord et côte Nord Ouest	Taille variable (5 à 11 cm), formes variées	Pluriflores, dressées	Moyens, oblong à arrondis	5 à 17gramme/100graines
Subterminales	Région du Nord en majorité, quelques taxa de côte Est	Petites à moyenne (2 à 6 cm)	Uni ou pluriflores, axillaires sur les nœuds terminaux ou subterminaux	Ovoïdes à oblongs	3 à 8gramme/100graines
Mauritianae-Humblotiana	Comores et îles Mascareignes	Petites ou moyennes	Uniflores parfois pauciflores	Ovoïdes à oblongs Moyens, ovoïdes parfois très allongés	10 à 18 gramme/100 graines

CHAPITRE II
MATERIELS ET METHODES

II. 1. MATERIELS D'ETUDE

Les matériels d'étude dans ce travail sont de 2 sortes : les spécimens d'herbier et les matériels frais (portions de tige, feuilles avec leur pétiole). Les matériels frais ont été récoltés pour l'étude anatomique.

Les spécimens d'herbier de *Mascarocoffea* que nous avons collectés, proviennent des récoltes que nous avons faites au cours des missions sur terrain. Leurs références sont données dans le tableau II.

Les caféiers étudiés appartiennent à la collection vivante de la station de recherches du FOFIFA à Kianjavato, Madagascar.

Tableau II : Liste des herbiers

Espèce	Revue*	Site de collecte*	Nom des collecteurs et numéro d'herbier*	Type et localisation *
<i>Coffea andrambovatensis</i> J.-F.Leroy	Trop. Bot. Appl. 9 : 528 (1962).	Est de Madagascar	collector anonyme, 6513-SF	holotype P (Paris); isotypes K (Kew), TEF (Tananarive)
<i>Coffea ankaranensis</i> J.-F.Leroy ex A.P.Davis & Rakotonas	Adansonia, sér 3, 23 : 339 (2001).	Nord de Madagascar	Capuron 23166-SF	holotype P; isotypes BR, P, K, MO, TEF
<i>Coffea bertrandii</i> A.Chev.,	Rev. Bot. Appl. Agric. Trop. 17 : 824 (1937).	Sud de Madagascar	François s.n	holotype P; isotype P
<i>Coffea dubardii</i> Jum	Ann. Mus. Colon. Marseille, sér. 5, 1(4) : 10 (1933).	Nord de Madagascar sur les bords du Makys, Montagne d'Ambre, 800 m, xi.1932	Perrier de la Bâthie 18821	lectotype P (Davis, A.)
<i>Coffea farafanganensis</i> J.-F.Leroy	J. Agric. Trop. Bot. Appl. 8 : 15 (1961).	Sud-Est de Madagascar	collector anonyme, 15386-SF	holotype P; isotypes P, TEF
<i>Coffea heimii</i> J.-F.Leroy	J. Agric. Trop. Bot. Appl. 9 : 242 (1962).	Nord de Madagascar	Capuron 20980- SF	holotype P; isotypes K, P, TEF
<i>Coffea kianjavatensis</i> J.-F.Leroy	Adansonia 12 : 322 (1972).	Est de Madagascar	Leroy 196-B (Kianjavato Coffee Research Centre acc. no. A. 213 [c])	holotype P; isotype K
<i>Coffea lancifolia</i> A.Chev	Rev. Bot. Appl. Agric. Trop. 18 : 829 (1938).	Est de Madagascar	Perrier de la Bâthie 3646	holotype P; isotype K, P
<i>Coffea mangorensis</i> Portères	J. Agric. Trop. Bot. Appl. 9 : 204 (1962).	Est de Madagascar	Portères A. 53	holotype P

Espèce	Revue*	Site de collecte*	Nom des collecteurs et numéro d'herbier*	Type et localisation *
<i>Coffea perrieri</i> Drake ex Jum. & H.Perrier	Ann. Mus. Colon. Marseille, sér. 2, 8 : 464 (1910).	Ouest de Madagascar , bords du Besaforta, affluent de droite du Menavava	Perrier de la Bâthie 465 bis [e]	lectotype P!, (A. Davis)
<i>Coffea pervilleana</i> (Baill.) Drake	Hist. Phys. Madagascar 36 (6, atlas 4): pl. 415 (1897).	Nord-Est de Madagascar (Nosi Bé Isl.)	Pervillé 458	holotype P
<i>Coffea resinosa</i> (Hook.f.) Radlk.,	Abh. Naturwiss. Vereins Bremen 8 : 392 [in adnot.] (1883).	Est de Madagascar	Gerrard s.n.	holotype K
<i>Coffea richardii</i> J.- F.Leroy,	J. Agric. Trop. Bot. Appl. 8 : 17 (1961).	Est de Madagascar	Capuron 9161- SF	holotype P; isotype TEF
<i>Coffea sambavensis</i> J.- F.Leroy ex A.P.Davis & Rakotonasolo	Adansonia, sér 3, 23 : 340 (2001).	Nord-Estt Madagascar	Capuron 27706-SF	holotype P; isotypes K, TEF
<i>Coffea sakarahae</i> J.- F.Leroy	J. Agric. Trop. Bot. Appl. 9 : 525 (1962).	Sud de Madagascar	Humbert 19742	holotype P
<i>Coffea canephora</i> Pierre ex A.Froehner	Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahlem 1: 237 (1897)	Gabon	Klaine in Pierre 247	holotype P

(* source Davis et al., 2006)

Il est à noter que les collections vivantes de *Mascarocoffea* sont constituées par un échantillonnage plus ou moins important d'individus prélevés dans les populations naturelles et multipliées par voie végétative ou issue de graines. Ces caféiers sont implantés à Kianjavato dans un contexte pédoclimatique parfois très différent de leur milieu d'origine. Par la suite, certains caféiers ne s'adaptent pas aux conditions écologiques de la station et présentent des formes différentes de celles déterminées par les conditions écologiques in situ.

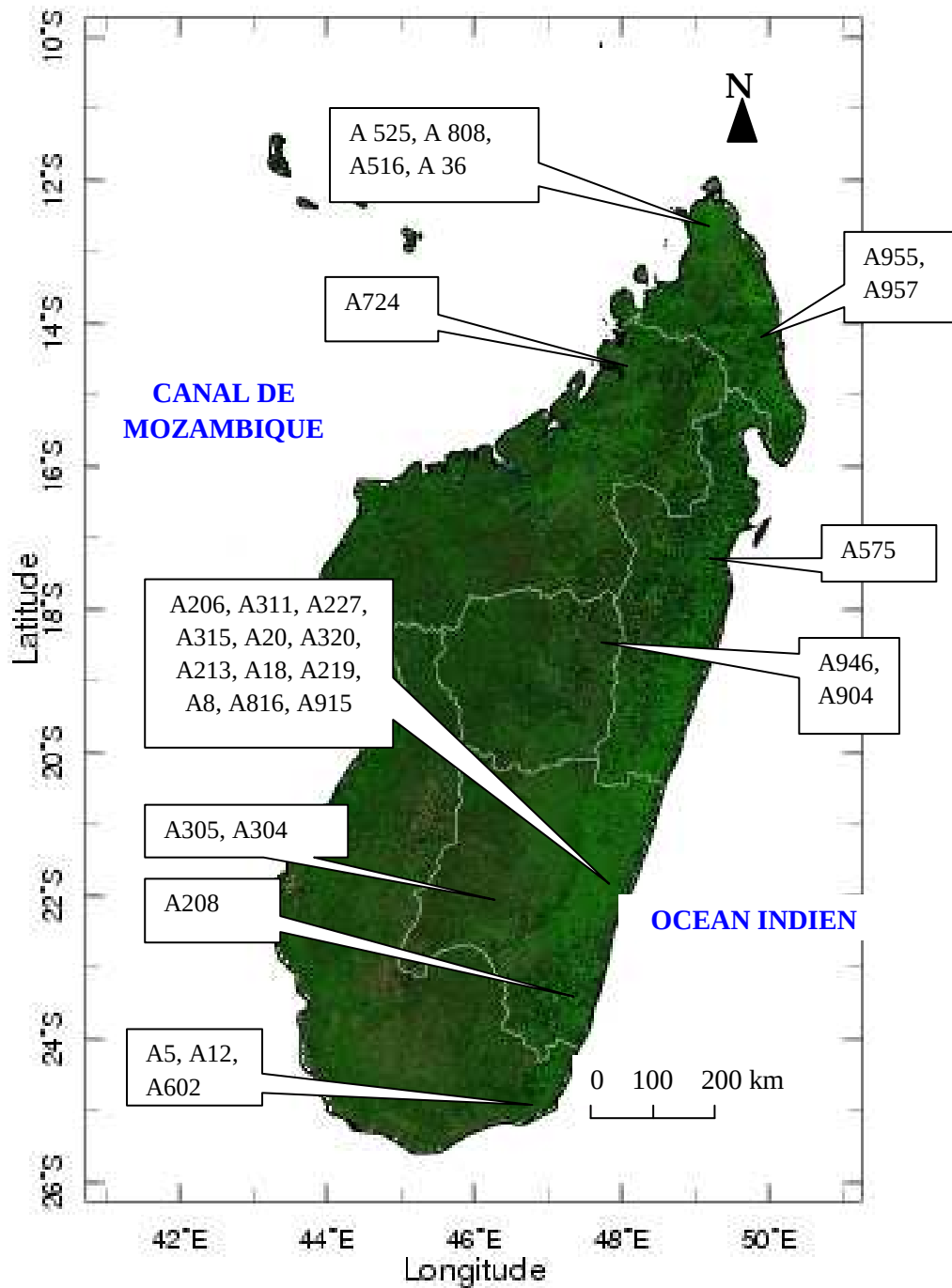
Pour cette étude anatomique, 27 populations, réparties dans 18 espèces et dans 5 séries botaniques de la section *Mascarocoffea* ont été utilisées (Tableau III). L'espèce *C. canephora* a été prise comme espèce témoin. « Accession » désigne les individus issus d'une même provenance, rassemblés en collection. Une population porte un numéro de code, et la notation « spp » désigne une population considérée comme un taxon spécifique non décrit. Ces populations sont représentatives des 5 séries botaniques de la région malgache décrites par Leroy (1963) : Multiflorae, Subterminales, Verae, Garcinioïdes et Complexe Millotii. Les caractéristiques de chaque taxon avec leur répartition géographique sont données en annexe 1.

Tableau III: Liste des 27 accessions étudiées réparties en 18 espèces et 5 séries botaniques

Série botanique	n°accession	Taxon
MULTIFLORAE	A 18	<i>C. mangorensis</i>
	A 5	<i>C. bertrandii</i>
	A 20, A 946	<i>C. vianneyi</i>
	A 12, A 305, A 724	<i>C. perrieri</i>
	A 8, A 816, A 915	<i>C. resinosa</i>
	A 227,	<i>C. andrambovatensis</i>
	A 311	<i>Coffea</i> sp
	A 525, A 808	<i>C. ankaranensis</i>
	A 315	<i>Coffea</i> sp
SUBTERMINALES	A 304	<i>C. sakarahae</i>
	A 957	<i>C. pervilleana</i>
VERAE	A 602, A213	<i>C. kianjavatensis</i>
	A 320	<i>C. lancifolia</i>
GARCINIOIDES	A 36	<i>C. dubardi</i>
	A 516	<i>C. heimii</i>
COMPLEXE MILLOTII	A 206	<i>C. dolichophylla</i>
	A 208	<i>C. farafanganensis</i>
	A 219	<i>C. millotii</i>
	A 575	<i>C. richardii</i>
	A 904	<i>Coffea</i> sp
	A 955	<i>C. sambavensis</i>

L'espèce diploïde *C. canephora* est choisie comme témoin dans cette étude. Cette espèce est cultivée en basse altitude, sous climat de type tropical humide dans le Sambirano et dans la partie Est de la grande île.

Les populations de *Mascarocoffea* étudiées sont distribuées naturellement du Nord au Sud de la grande île en passant par le centre (Carte n° 2).



Carte n°2 : Distribution géographique des taxa étudiés (source fond de carte : http://www.kew.org/gis/projects/mad_veg/form.html, Mars 2011)

II. 2. METHODES

II. 2. 1. Récolte des échantillons

Les descentes sur terrain ont permis de collecter d'une part des matériels vivants comme les plantules et des matériels frais comme les feuilles, fruits ou fleurs et d'autre part des herbiers de référence.

Les parties récoltées sont des portions de jeunes tiges et feuilles. Pour les études anatomiques les matériels frais ont été conservés dans une solution fixatrice de FAA de composition : 5cc de Formaldéhyde + 5cc d'Acide acétique glacial + 90cc d'alcool éthylique à 70%. Selon Culter (1969), cette solution permet une meilleure fixation des tissus pour les études histologiques.

Les herbiers prélevés sont déposés à l'herbarium du Département de Biologie et Ecologie Végétales, Faculté des Sciences pour des utilisations ultérieures.

II. 2. 2. Etude anatomique

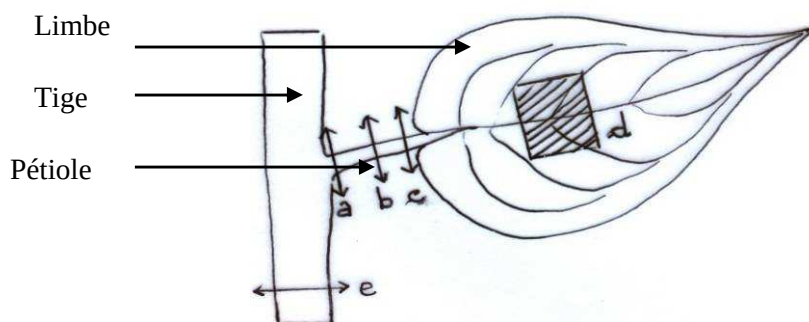
Les études anatomiques ont été effectuées au laboratoire de botanique de la Faculté des Sciences d'Antananarivo.

II. 2. 2.1. Coupes et coloration

▪ Coupes transversales

Selon Culter (1969), il est important d'observer la même partie d'un organe pour des études comparatives. Une coupe transversale d'une feuille est normalement étudiée au niveau de sa plus large région et la surface de la feuille est prise près de la région centrale du limbe (Figure n°2). Les coupes au niveau du pétiole ont été réalisées à 2 ou 3 niveaux selon la longueur du pétiole : proximal (près de l'insertion du pétiole sur la tige), médian et distal (à la base du limbe) (Figure n°2). Les portions de tige à couper transversalement appartiennent aux entre-nœuds n°2 en dessous du bourgeon terminal.

Le matériel étudié est inclus dans un fragment de moelle de sureau fendu longitudinalement. Les coupes fines ont été réalisées à l'aide d'un microtome à main.



Légende:

- | | |
|--------------------------------|---|
| a : Coupe proximale du pétiole | d : Coupe transversale au niveau du limbe |
| b : Coupe médiane du pétiole | e : Coupe transversale de la tige |
| c : Coupe distale du pétiole | |

Figure n°2 : Différents niveaux de coupes transversales

■ Préparation et coloration des coupes

Avant le montage entre lame et lamelle, les coupes subissent préalablement les traitements suivants:

- Elimination du contenu cellulaire par de l'eau de javel 5% (8-10 minutes) pour les rendre plus lisibles ;
- Rinçage 2 à 3 fois à l'eau distillée ;
- Passage dans de l'acide acétique (2-3 minutes) nécessaire pour fixer le colorant ;
- Coloration au carmino-vert de Mirande (5-10 minutes) ;
- Rinçage 3 fois à l'eau distillée ;
- Montage entre lame et lamelle dans de l'eau glycinée.

II. 2. 2. 2. Clarification

Pour compléter l'étude des feuilles, la clarification permet d'obtenir à l'œil nu l'architecture des nervations qui est défini comme le mode d'agencement des nervures secondaires (Hickey, 1971) et qui révèle des caractères importants dans l'identification de certaines espèces.

Elle a été effectuée pour avoir des éléments supplémentaires de comparaison. Pour ce faire, la méthode de Jensen (1962) a été appliquée. Les feuilles prélevées dans des herbiers sont traitées dans du NaOH 5% pendant 3 semaines environ, puis rincées plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à ce que les feuilles soient complètement dépigmentées. Les feuilles sont ensuite déshydratées dans une série de bains d'alcool (50%, 70%, 80%, 96% et 100%). On colore les feuilles avec de la Safranine O dans 70% d'alcool puis on fait le montage entre lame et lamelle dans de la glycérine pour des observations rapides ou dans du baume de canada pour des colorations permanentes. L'interprétation rejoint celle de Hickey (1971).

II. 2. 2. 3. Etude histologique

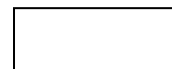
Les coupes sont observées au microscope optique (Nikon Model YS100) sous différents grossissements selon le type de tissu ou la partie étudiée. Les observations permettent de dégager les caractères anatomiques propres à chaque spécimen étudié notamment :

- La structure des cellules formant les différents tissus ;
- L'aspect général des tissus conducteurs au niveau des nervures ;
- Les différents types de stomates.

II. 2. 2. 4. Description anatomique

Toutes les données anatomiques sont résumées par des dessins d'ensemble réalisés avec les signes conventionnels indiqués ci-après. Elles sont complétées par des dessins de détail:

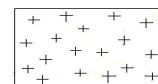
Parenchyme



Parenchyme palissadique



Collenchyme



Sclérenchyme



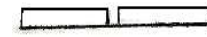
Epiderme avec poils et stomates



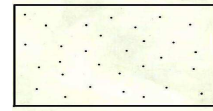
Epiderme avec cuticule et stomates



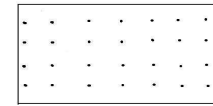
Epiderme sans cuticule et avec stomates



Phloème I



Phloème II



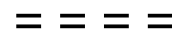
Xylème I



Xylème II



Cambium



II. 2.2.5. Empreinte de stomates

La face inférieure des feuilles fraîches récoltées est nettoyée avec un coton imbibé d'alcool. Une couche mince de vernis à ongle, de préférence de couleur transparente, est étalée à la surface de la feuille nettoyée, on laisse sécher le vernis. Cette couche de vernis est ensuite décollée à l'aide d'une bande adhésive transparente (ruban scotch). On dépose le scotch sur une lame.

Les types de stomates sont définis selon le mode d'agencement des cellules épidermiques et des cellules accessoires autour des cellules de gardes. La nomenclature de Metcalf et Chalk (1950) a été utilisée pour l'interprétation.

II.2. 2. 6. Etablissement de fiche de description anatomique

Une fiche de description dans laquelle figure les caractères jugés d'importance taxonomique ou d'utilité pour la différenciation des taxa a été dressée. (Annexe 3, 4, 5).

II. 2. 3. Traitements des données

L'Analyse Factorielle de correspondances (AFC) développée par Benzecri (1980) et la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) [Lebart *et al.*, 1977] ont été appliquées à ces données.

II. 2. 3. 1. Analyse des variables qualitatives

Un tableau de contingence disjonctif complet a été élaboré à partir des caractères observés anatomiquement. Les caractères qui ne varient point ont été éliminés du tableau. La structuration de la matrice est la suivante :

- Les lignes représentent les taxa ;
- Les colonnes correspondent aux caractères observés (Annexe 8).

L'AFC a été utilisé pour interpréter la distribution des variations des caractères parmi les groupes taxonomiques. Cette analyse se propose de représenter dans un plan factoriel l'ensemble des variations des caractères et celui des différents individus ou groupes, de telle sorte que chaque individu ou groupe d'individus soient positionnés à proximité des caractères qui les discriminent, et inversement.

Le degré de similitude entre les différents taxa est déterminé à partir d'un dendrogramme issu de la CAH obtenue via les coordonnées des individus sur les 3 premiers facteurs. La distance de Manhattan et le critère d'agrégation selon la méthode de Ward (1963) ont été utilisés. Il est à noter qu'une classification automatique obtenue sur un ensemble d'individus ou groupes n'est jamais « la » classification de cet ensemble ; il s'agirait plutôt d'une classification (parmi beaucoup d'autres) établie à partir de variables et de méthodes choisies intentionnellement. Ces deux types d'analyse ont été effectués à l'aide du logiciel STATISTICA 6.0.

Les deux méthodes ont été appliquées sur les vingt sept taxa étudiés avec vingt cinq variables au total, dont neuf variables pour la tige, douze pour la feuille et quatre pour le pétiole. La description de chaque variable est donnée en annexes 3, 4 et 5.

II. 2. 3. 2. Analyse d'une variable quantitative : la densité des stomates

Pour l'étude de la densité de stomates, quinze espèces de *Mascarocoffea* représentatives des 5 séries botaniques ont été utilisées. La densité stomatique a été obtenue sur des

impressions épidermiques extraites par un ruban adhésif incolore. Ce dernier a été fixé sur une lame. Le comptage des stomates a été fait au microscope optique (Leitz Dialux 22EB) dans un champ de dimension égale à 5 mm^2 (objectif 20, oculaire 12,5). La densité de stomates est le nombre de stomates au mm^2 . La moyenne de 10 densités par feuille a été utilisée pour les analyses statistiques.

L'analyse de variance suivant le modèle hiérarchique mixte à 3 facteurs a été appliquée pour l'étude de la variabilité de la densité de stomates. Le facteur « génotype » (4 génotypes par espèce) considéré comme aléatoire étant imbriqué au facteur « espèce » (3 espèces par série) considéré également comme aléatoire ; ce dernier étant lui même imbriqué au facteur « série » (5 séries) considéré fixe. Chacun des génotypes faisait l'objet de 5 mesures.

La valeur de la probabilité obtenue permet d'estimer la significativité du test pour chaque facteur puisque si

$P > 0,05$ = le test est non significatif ;

$0,01 < P < 0,05$ = le test est significatif ;

$P < 0,01$ = le test est hautement significatif.

Quant l'hypothèse nulle est rejetée pour l'un ou l'autre des facteurs, le test de Newman et Keuls pour la comparaison multiple des moyennes est appliqué. Dans ce cas, les « individus » ne présentant pas de différence significative entre eux sont repérés par une même lettre.

La décomposition de la variance est appliquée aux facteurs aléatoires en cas de rejet de l'hypothèse nulle. L'estimation de la variance factorielle qu'on en déduit permet de calculer le « coefficient de corrélation intra-classe de Snedecor » qui donne la contribution relative de la variance factorielle par rapport à la variance observée.

Afin de tester l'indépendance entre la densité des stomates et la taille des feuilles, le coefficient de corrélation « r » a été calculé. Si r calculé dépasse le seuil de r donné par la table de coefficient de corrélation (annexe 5) avec un degré de liberté égal à $(n - 2)$, il y a une liaison significative de la densité des stomates et la taille des feuilles. La valeur de r varie de -1 à $+1$ et la dépendance entre les deux variables est d'autant plus grande si la valeur absolue de « r » s'approche de 1.

Les modèles mathématiques de l'analyse et de la décomposition des variances ainsi que le calcul du coefficient de corrélation « r » sont représentés en annexe 6.

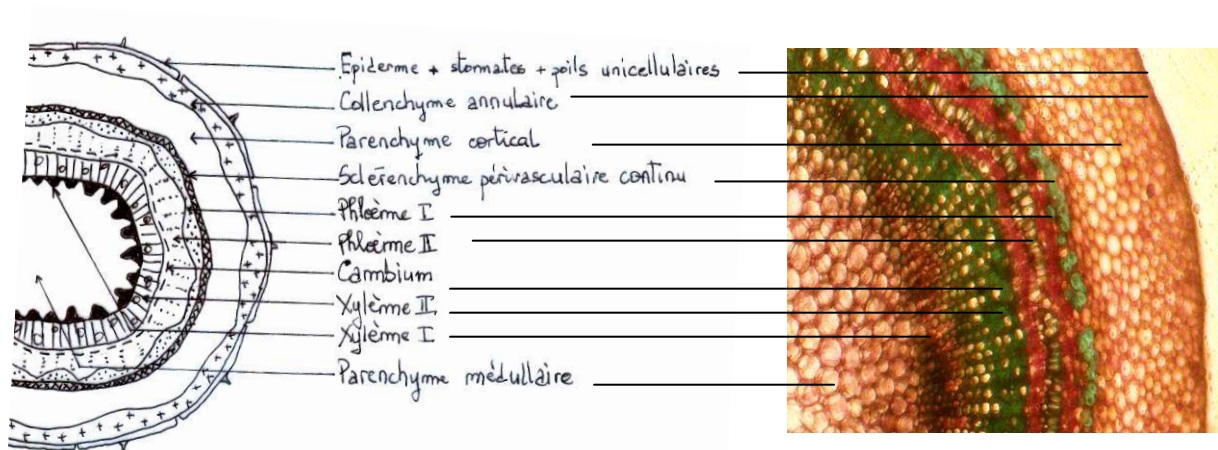
CHAPITRE III
RESULTATS-INTERPRETATION

III. 1. Caractères anatomiques

III.1.1. Coupes transversales des tiges

Une coupe transversale de la tige jeune des accessions étudiées montre une superposition des couches suivantes (Figure n°3 – Photo n°1):

- Epiderme avec cuticule, stomates avec ou sans poils unicellulaires ;
- 2 à 4 couches de collenchyme annulaire continu ;
- 4 à 8 couches de parenchyme cortical ;
- Sclérenchyme périvasculaire continu ou discontinu ;
- Faisceau libéro-ligneux (composé d'un phloème externe et d'un xylème interne) ;
- Parenchyme médullaire.



▪ **Epiderme**

L'épiderme chez les *Mascarocoffea* étudiés est simple, c'est-à-dire formé d'une seule assise de cellules de formes variables (arrondie, cubique ou rectangulaire). Vue en coupe transversale, les cellules épidermiques sont compactes.

▪ **Cuticule**

L'épiderme est couvert d'une couche mince de cuticule (couche jaune à jaune verdâtre en coupe, c'est une couche de matière lipidique imperméable à l'eau, déposé à la surface de l'épiderme, ayant une fonction de protection). La cuticule est présente chez toutes les populations étudiées.

▪ Poils

L'épiderme est muni généralement de poils unicellulaires (Figure n°2) courts et/ou longs, recourbés ou raides. La moitié des espèces étudiées possèdent des poils unicellulaires à savoir :

- les Multiflorae : *C. vianneyi*, *C. Resinosa*;
- les Subterminales : *C. sakaraha*, *C. pervilleana* ;
- le Verae : *C. kianjavatensis*;
- Les Garcinioïdes : *C. dubardi*, *C. heimii*;
- Les complexes Millotii : *C. richardii*, *C. farafanganensis*, *C. millotii*.

Les poils unicellulaires sont absents chez :

- Les Multiflorae : *C. mangorensis*, *C. bertrandii*, *Coffea* sp A315, *C. ankaranensis*, *C. perrieri*;
- Le Verae *C. lancifolia* ;
- Les complexes Millotii : *C. dolichophylla*, *C. sambavensis*, *Coffea* sp A904.

Les 2 espèces de Garcinioïdes montrent des poils beaucoup plus denses (Photo n°2) par rapport à ceux des autres séries. Cette situation pourrait être expliquée par l'aridité du microclimat qui caractérise la région d'origine des 2 espèces.

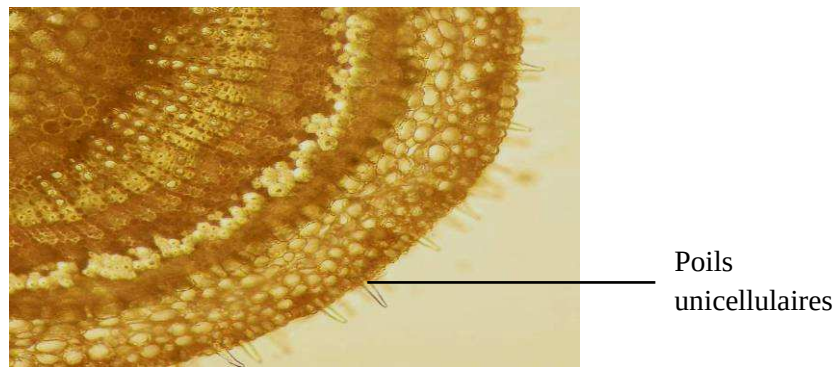


Photo n°2 : Coupe transversale d'une tige avec poils unicellulaires chez *C. heimii*.

▪ Collenchyme et parenchyme cortical

Le collenchyme est généralement continu ou discontinu sous l'épiderme des tiges. Le collenchyme est annulaire chez les *Mascarocoffea* étudiées (Photo n°3). Les cellules collenchymateuses sont de petites tailles et ont des formes variables. Les cellules parenchymateuses sont de forme et de taille variable, en général isodiamétriques ou allongées, plus ou moins arrondies dans les angles (Photo n°3).

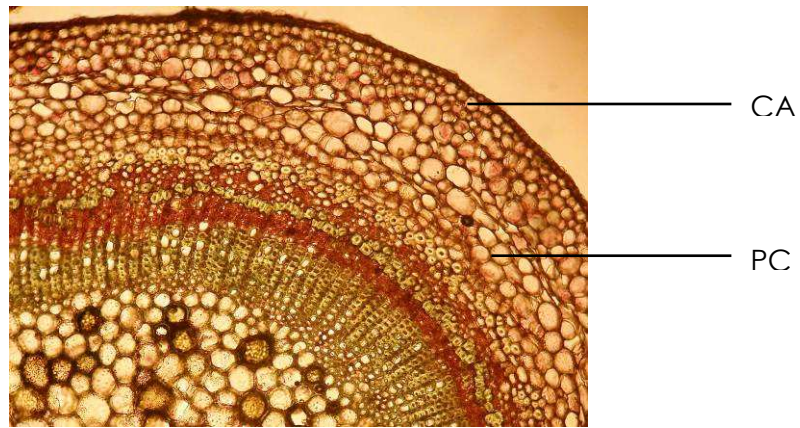


Photo n°3 : 2 à 4 couches de collenchyme annulaire (CA) et 6 à 8 couches de parenchyme cortical (PC) chez *C. kianjavatensis* A 213.

▪ Sclérenchyme péricyclique

L'observation des coupes anatomiques faites au niveau des tiges montre deux structures du sclérenchyme péricyclique au sein de la section *Mascarocoffea*.

Il est continu (Figure n°4 –Photo n°4) chez :

- o Les Verae;
- o Les Garcinioides;
- o Les Multiflorae : *C. resinosa*, *C. vianneyi* et *C. bertrandii*;
- o Le Subterminales : *C. sakarahae*;
- o Les Complexes Millotii : *C. dolichophylla*, *C. millotii* et *Coffea* sp A 904.

et discontinu en plusieurs lots (Figure n°5 - Photo n°5) chez :

- o Les Multiflorae : *C. perrieri*, *C. andrambovatensis*, *C. ankaranensis*;
C. mangoroensis et *Coffea* sp A 315;
- o Le Subterminales : *C. pervilleana*;
- o Les Complexes Millotii : *C. farafanganensis*, *C. richardii* et *C. sambavensis*.

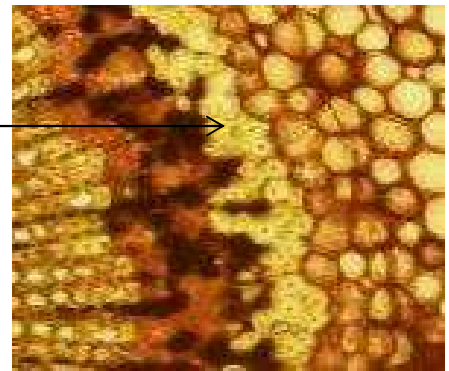
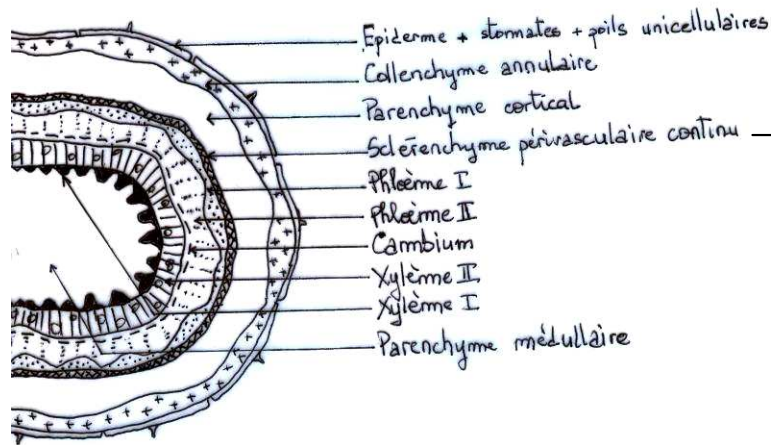


Figure n°4: CT de tige avec un sclérenchyme continu.

Photo n°4: CT d'une tige avec un sclérenchyme continu chez *C. bertrandii*.

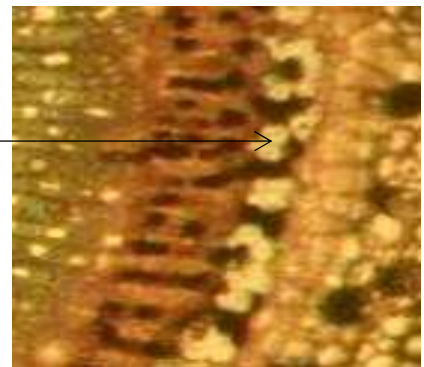
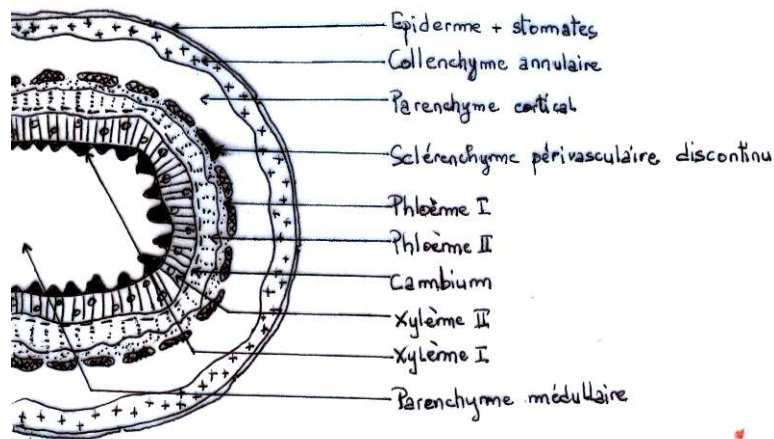


Figure n°5: CT de tige avec un sclérenchyme discontinu.

Photo n°5: CT d'une tige avec un sclérenchyme discontinu chez *C. richardii*

▪ Faisceau libéro-ligneux (FLL)

Il est développé et fermé chez toutes les espèces, avec un xylème interne et un phloème externe. Le faisceau libéro-ligneux présente une à 2 couches de fibres phloëmiennes continues et bien nettes (Figure n°6, Photo n°6) chez :

- o Les Multiflorae : *C. andrambovatensis*, *C. bertrandii*, *C. ankaranensis*, *C. mangorensis*, *Coffea* sp A315;
- o Le Subterminales : *C. sakarahaie*;
- o Le Verae : *C. kianjavatensis* ;
- o Le Garcinioïdes : *C. dubardi* ;

- o Les Complexes Millotii : *C. dolichophylla*, *C. farafanganensis* et *Coffea sambavensis*

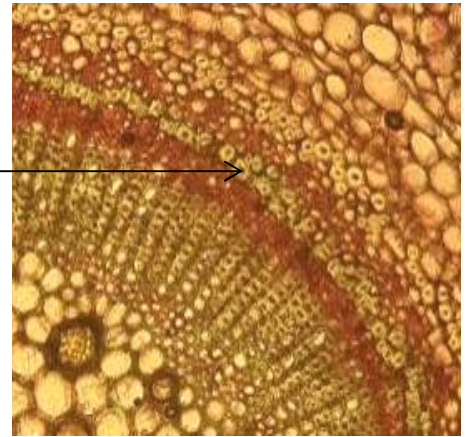
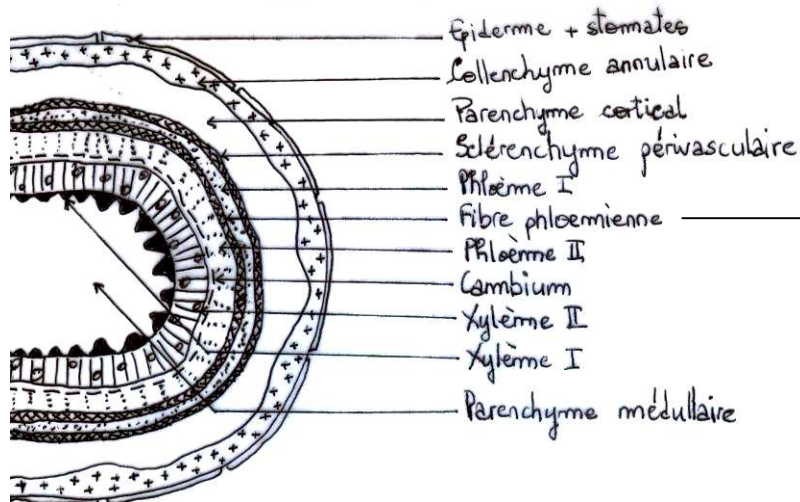


Figure n°6 : CT de tige avec une couche de fibre phloémienne.

Photo n°6 : CT d'une tige avec une couche de fibre phloémienne chez *C. sakaraha*.

Cette couche de fibre phloémienne est absente (Figure n°7, Photo n°7) chez :

- o Les Multiflorae : *C. resinosa*, *C. vianneyi*, *C. perrieri* ;
- o Le Subterminales : *C. pervilleana* ;
- o Le Verae : *C. lancifolia* ;
- o Le Garcinioïdes : *C. heimii* ;
- o Les Complexes Millotii : *C. richardii*, *C. millotii* et *Coffea* sp A 904.

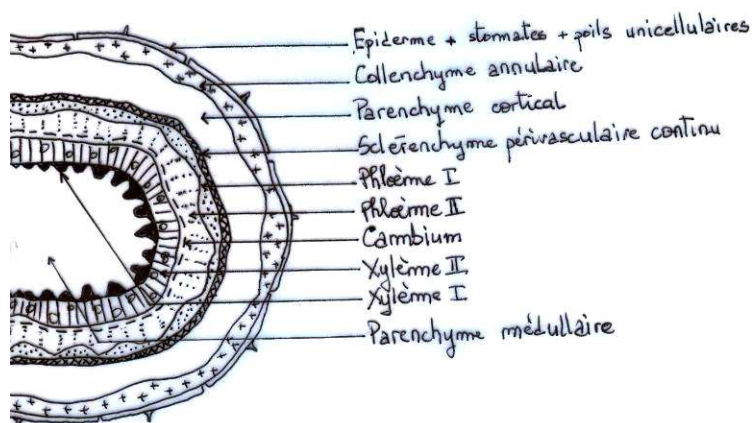


Figure n°7: CT de tige sans couche de fibre phloémienne.

Photo n°7: CT d'une tige sans fibre phloémienne chez *C. lancifolia*.

▪ Parenchyme médullaire

Il est développé et composé de cellules généralement lignifiées, isodiamétriques plus ou moins arrondies et de taille variable ; les cellules périphériques sont plus petites par rapport aux cellules centrales et certaines cellules renferment des substances de couleur marron non identifiées.

En résumé, l'observation des coupes de la tige montre la variabilité de 3 caractères au sein des taxa étudiés :

- présence/absence de poils unicellulaires ;
- sclérenchyme continu/ discontinu ;
- présence/ absence de fibre phlœmienne.

III.1.2. Anatomie de la feuille

❖ Coupe transversale de la feuille

Sur une coupe transversale pratiquée au niveau du limbe en passant par la nervure principale, on observe les tissus fondamentaux suivants (Figure n°8, Photo n°8):

- Epiderme supérieur muni de cuticule ; Collenchyme annulaire ;
- Faisceaux libéro-ligneux ;
- Mésophylle avec un ou 2 couches de parenchyme palissadique vers la face supérieure et un parenchyme lacuneux vers la face inférieure ;
- Epiderme inférieur avec des stomates et muni d'une couche mince de cuticule.

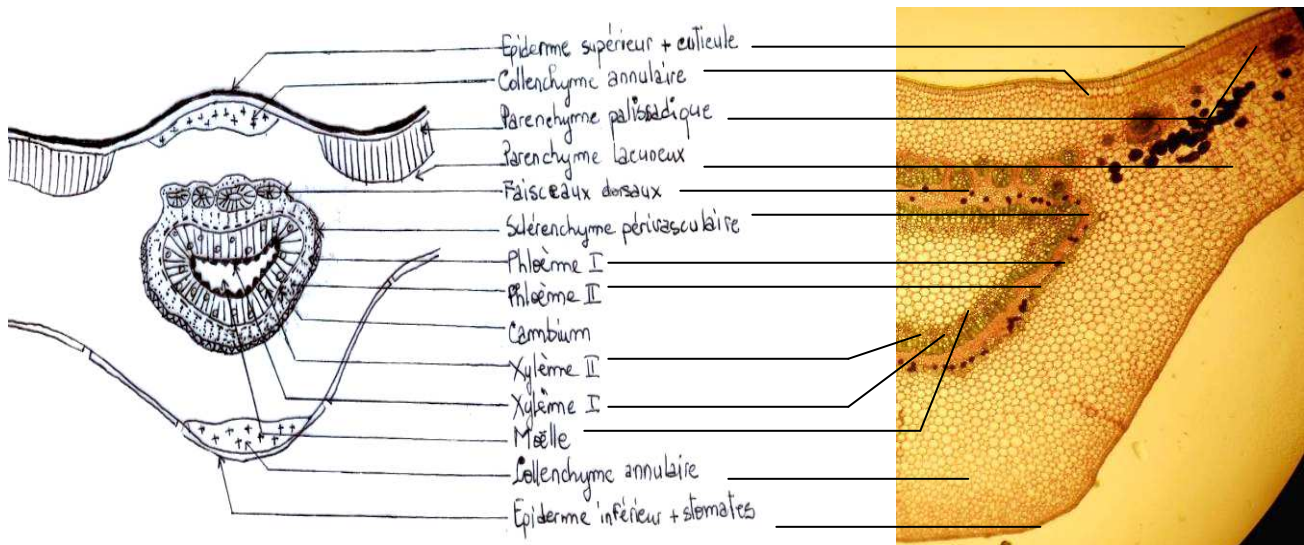


Figure n°8 : Coupe transversale d'une feuille.

Photo n°8 : CT d'une feuille au niveau de la nervure principale et du mésophylle chez *C. richardii*

- **Epiderme supérieur et collenchyme**

L'épiderme supérieur est unisériel chez les *Mascarocoffea* étudiés, il est constitué par des cellules à paroi cellulosique de taille variables : les cellules sont cubique et de petite taille au niveau de la nervure principale, et deviennent rectangulaires allongées ou cubiques mais de grande taille de part et d'autre de la nervure principale (Figure n°9). L'épiderme supérieur est muni d'une couche épaisse d'environ 9 µm de cuticule et il est sans stomates.

Le collenchyme est annulaire chez les 27 accessions et se trouve uniquement au niveau de la nervure principale. Le collenchyme est plus développé au-dessus de l'épiderme inférieur et moins développé en dessous de l'épiderme supérieur. Les cellules collenchymateuses sont cubiques ou plus ou moins arrondies et de taille variable (Figure n°9).

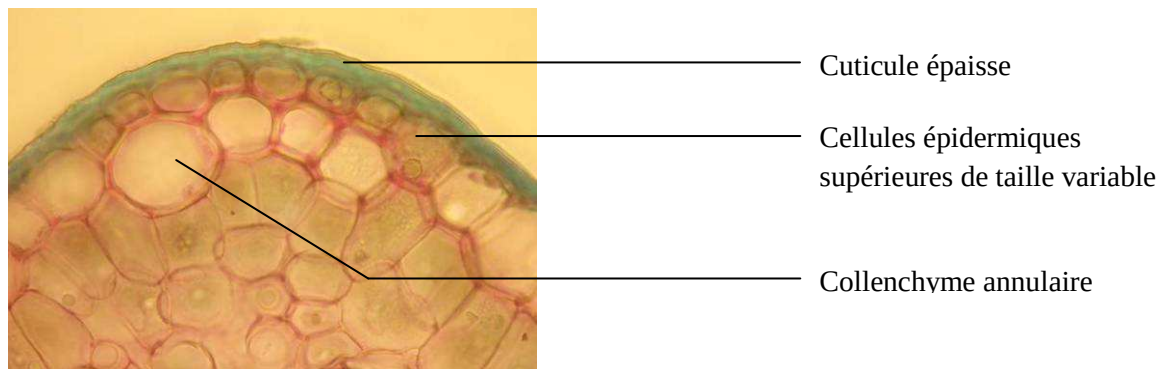


Photo n°9 : Coupe Transversale d'une feuille montrant la cuticule épaisse, le collenchyme annulaire, les cellules épidermiques supérieures de taille variable chez *C. kianjavatensis* A 602.

- **Epiderme inférieur**

Il comporte de nombreux stomates. Toutes les espèces étudiées présentent des cellules épidermiques inférieures peu développées par rapport à celles de l'épiderme supérieur. Les cellules sont de forme variables : plus ou moins carrées, rectangulaires allongées, arrondies ou cubiques d'environ 9 µm de hauteur. L'épiderme est muni d'une cuticule plus mince d'environ 6 µm d'épaisseur en moyenne. Les trichomes sont absents.

Des poils unicellulaires groupés près de la nervure principale (Photo n°10) sont observés chez les Garcinioïdes. Cette présence de poils marque le début de la formation d'une crypte pilifère, il s'agit d'une cavité garnie de poils et formée par enfouissement de l'épiderme. Cette situation serait expliquée par l'aridité qui caractérise la région d'origine des populations concernées.

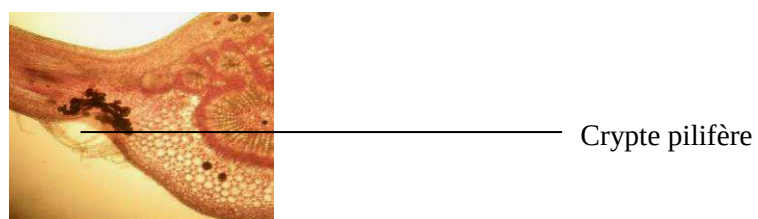


Photo n°10 : Coupe Transversale d'une feuille avec une crypte pilifère chez *C. dubardi*.

- **Mésophylle**

Chez les *Mascarocoffea* étudiés, le mésophylle est hétérogène c'est-à-dire composé d'un parenchyme palissadique vers la face supérieure et d'un parenchyme lacuneux vers la face inférieure :

- Le parenchyme palissadique, situé directement sous l'assise épidermique, comprend soit une seule assise (unisérié) [Photo n°11] soit deux assises (bisérié) de cellules compactes, allongées, riches en chloroplastes et à parois minces (Photo n°12). Lorsque le parenchyme palissadique s'organise en deux assises de cellules (bisérié), la première externe est formée d'un agencement de cellules allongées compactes et la seconde interne, plus lâche est composée de cellules plus ou moins cubiques et plus pauvres en chloroplastes. Les parois latérales des cellules de ces deux types de parenchyme peuvent être rectilignes ou sinueuses. La plupart des espèces étudiées possèdent un parenchyme palissadique bisérié sauf : *C. vianneyi*, *C. pervilleana*, *C. kianjavatensis* et tous les taxa du complexe *Millotii*.

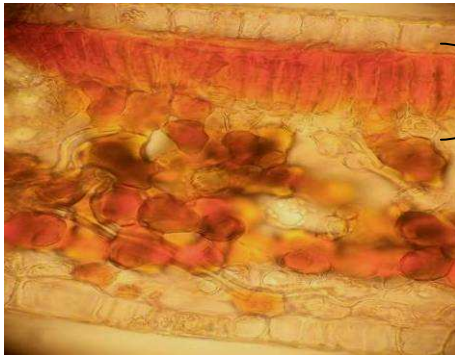


Photo n°11 : CT d'une feuille avec un parenchyme palissadique unisérié U chez *C. kianjavatensis*.

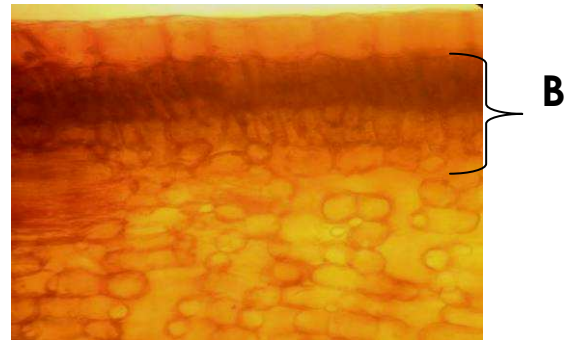


Photo n°12 : CT d'une feuille avec un parenchyme palissadique bisérié B chez *C. perrieri*.

- Le parenchyme lacuneux, bien développé est composé de plusieurs assises de petites cellules plus ou moins arrondies de taille variable présentant entre elles de nombreuses lacunes larges et allongées ou étroites et isolées (Photo n°13).

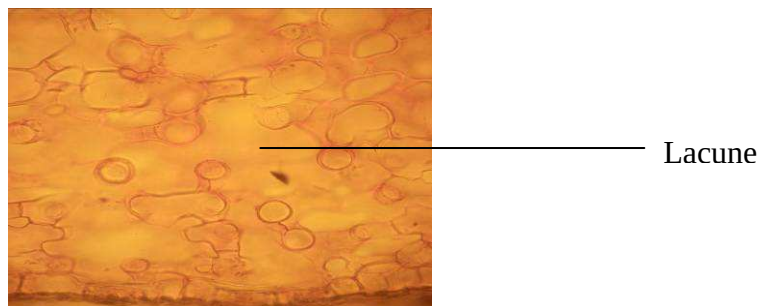
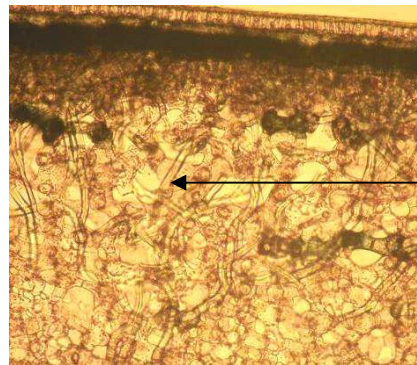


Photo n°13 : Parenchyme lacuneux chez *C. farafangensis*.

- Le mésophylle contient des sclérites filiformes (Figure n°14) chez les Multiflorae à l'exception de *C. resinosa* ; chez les Subterminales, les Garcinioides et le complexe Millotii. Les sclérites sont absents chez *C. resinosa*, *C. kianjavatensis* et *C. lancifolia*.



Sclérites

Photo n°14: Coupe transversale d'une feuille avec des sclérites dans le mésophylle chez *Coffea* sp A 904.

- **Nervure principale**

Elle montre différentes formes. 4 types de nervure principale sont rencontrés chez les *Mascarocoffea* étudiées :

- Une nervure principale saillante sur la face ventrale et plus ou moins aplatie sur la face dorsale chez : A213, A602, A305, A12, A311, A525, A808, A20, A946, A18, A315 et A957 (Photo n°15) ;
- Une nervure principale aplatie sur la face ventrale et saillante sur la face dorsale chez : A320, A575, A208, A955, A915 et A516 (Photo n°16) ;
- Une nervure principale protubérante sur les deux faces chez : A 904, A 816, A 8, A 227, A36, A724 et A5 (Photo n°17) ;
- Une nervure principale aplatie sur la face ventrale et la face dorsale chez : A219, A206 et A304 (Photo n°18).

Chez les taxa étudiés les couches de phloème et de xylème sont généralement continues et développées. Le sclérenchyme se présente sous forme d'une stèle complète. Les faisceaux vasculaires sont surmontés de 4 à 6 faisceaux dorsaux discontinus ou continus formant une plaque dorsale et entourée de sclérenchyme peu épais sur leur face supérieure. Quatre formes de faisceaux vasculaires sont observées :

- Faisceau vasculaire disposé en stèle continue arrondie chez la plupart des espèces (Figure n°9, Photo n°15)

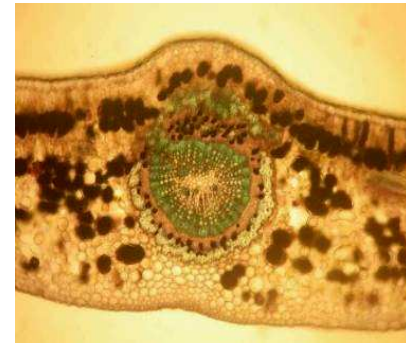
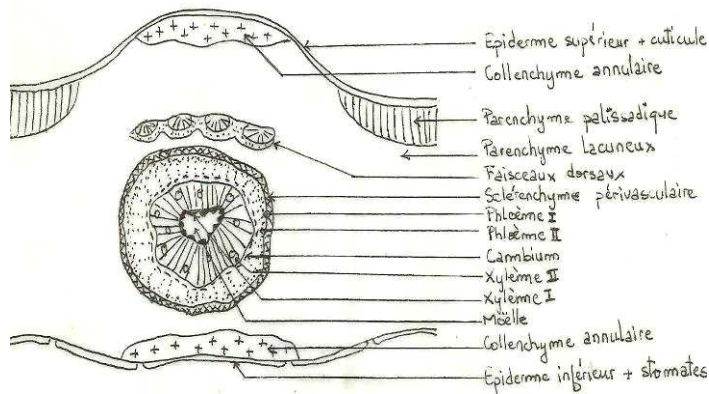


Figure n°9 : CT d'une feuille avec un faisceau vasculaire en stèle continu arrondie.

Photo n°15: Faisceau vasculaire en stèle continue et arrondie chez *C. mangorensis*

- Faisceau vasculaire disposé en stèle continu plus ou moins triangulaire, à face dorsale aplatie chez *C. kianjavatensis* A213, *C. lancifolia* et *C. richardii* (Figure n°10, Photo n°16) ;

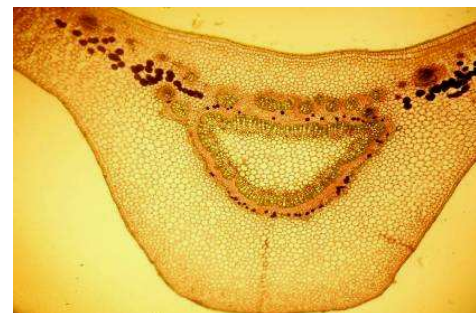
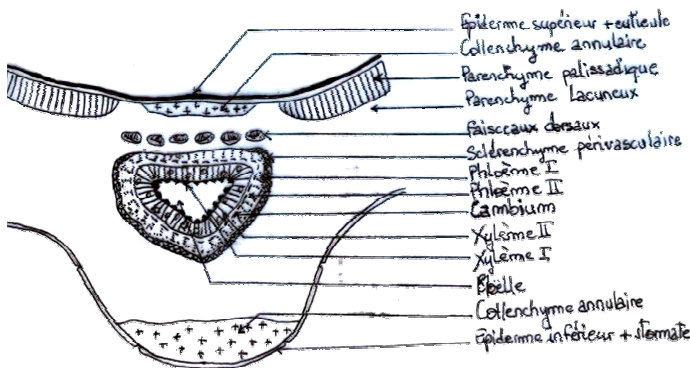


Figure n°10 : CT d'une feuille avec un faisceau vasculaire fermé triangulaire.

Photo n°16: faisceau vasculaire fermé triangulaire chez *C. richardii*

- Faisceau vasculaire continu en forme de coupe échancrée, largement évasée chez *C. resinosa* (Figure n°11, Photo n°17) ;

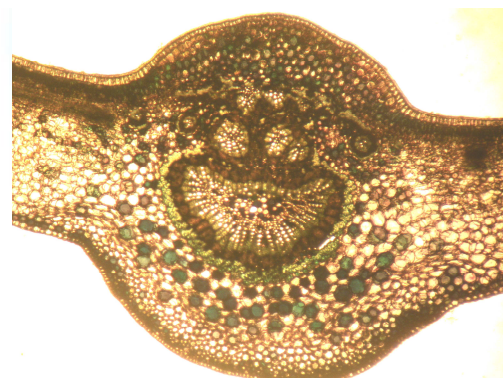
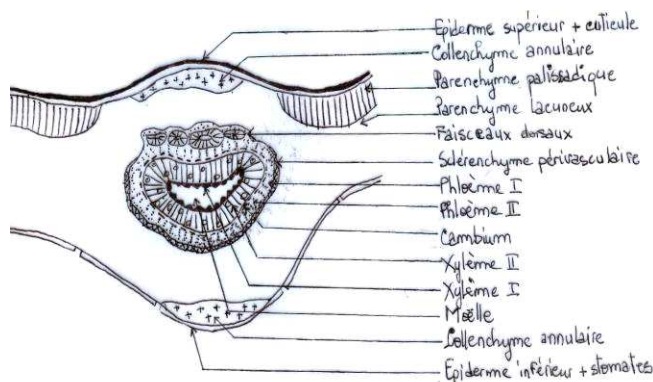


Figure n°11 : CT d'une feuille avec un faisceau vasculaire en stèle évasée.

Photo n°17 : faisceau vasculaire en stèle évasée chez *Coffea* sp A904.

- Faisceau vasculaire disposé en plaque chez *C. kianjavatensis* A602 et *C. millotii* (Photo n°17, Figure n°12).

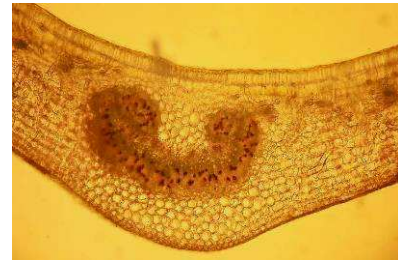
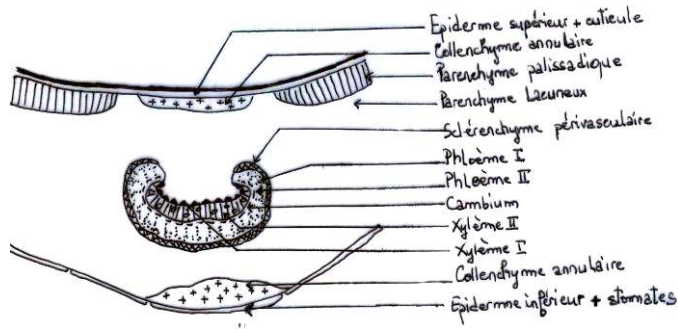


Figure n°12 : CT d'une feuille avec un faisceau vasculaire en arc ouvert aux extrémités incurvées.

Photo n°18: Faisceau vasculaire en arc aux extrémités incurvées chez *C. millotii*.

❖ Types de stomate

Vue en surface, les parois cellulaires épidermiques des taxa étudiés sont polygonales (Photo n°19) sauf chez *C. heimii* qui montre des parois cellulaires épidermiques sinueuses ou ondulées (Photo n°20).

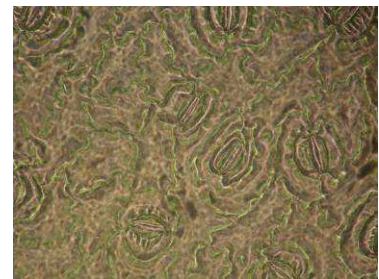
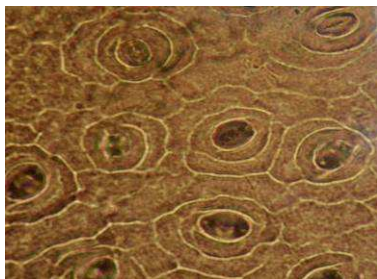


Photo n°19: Cellules épidermiques à paroi polygonale chez *Coffea* sp A315.

Photo n°20: Cellules épidermiques à paroi sinueuse chez *C. heimii*.

Chez les *Mascarocoffea* étudiées, les stomates sont condensés au niveau de la face inférieure de la feuille et sont de trois types :

- **Paracytique** : les cellules de gardes sont accompagnées par 2 ou plusieurs cellules accessoires localisées de chaque côté et parallèlement à leur grand axe (Figure n°13). La plupart des espèces possèdent ce type de stomate à savoir : les Multiflorae sauf *C. andrambovatensis*, les Garcinioïdes, le Subterminales *C. pervilleana* et *Coffea* sp A 904 (Photo n°20) ;

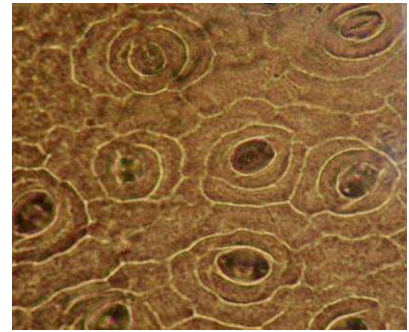
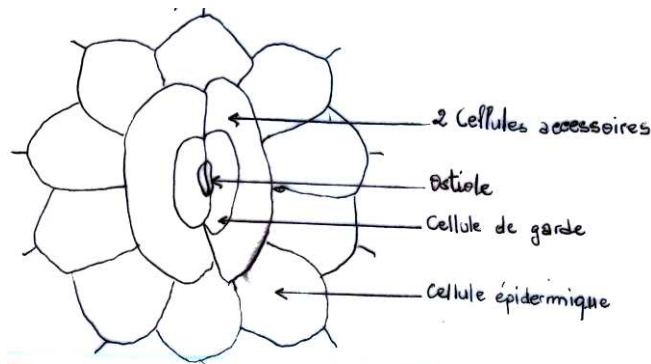


Figure n°13 : Stomate de type paracytique.

Photo n°21 : Stomate de type paracytique chez *Coffea* sp A315.

- **Anomocytique:** les cellules de gardes sont entourées par un nombre limité de cellules épidermiques qui ne se distinguent ni par la taille ni par la forme, il n'y a pas de cellules accessoires (Figure n°14). Ce type de stomate est observé chez : *Coffea* sp A311, les Vraies (*C. kianjavatensis* - *C. lancifolia*) et les complexes Millotii (*C. dolichophylla*, *C. farafangensis*, *C. millotii*, *C. richardii* et *C. sambavensis*) [Photo n°21] ;

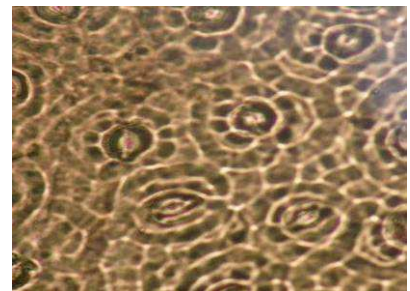
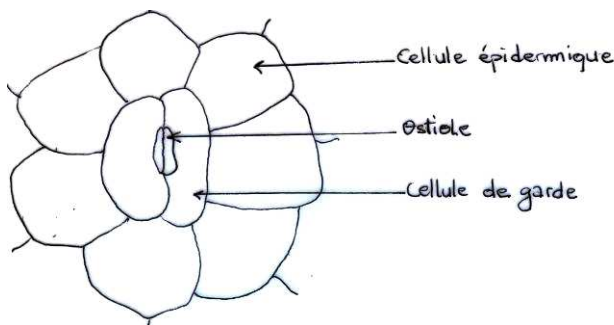


Figure n°14 : Stomate de type anomocytique.

Photo n°22: Stomate de type anomocytique chez *C. farafangensis*.

- **Tetracytique:** les cellules de gardes sont entourées par 4 cellules accessoires dont 2 en position latérales et 2 en position terminale (Figure n°15). Il est rencontré uniquement chez *C. sakaraha* (Photo n°21).

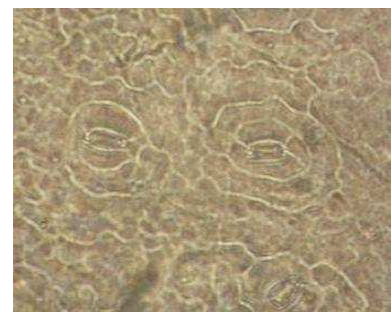
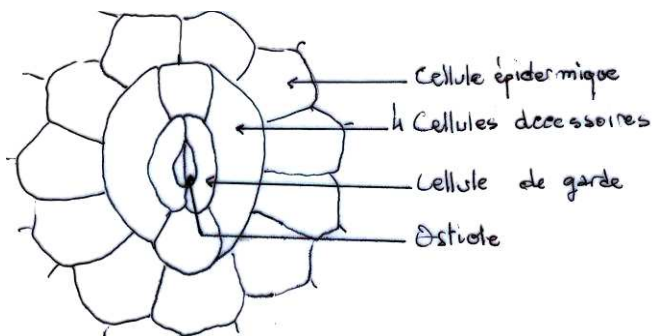


Figure n°15 : Stomate de type tetracytique.

Photo n°23: Stomate tetracytique à paroi rectiligne chez *C. sakaraha*.

❖ Architecture des nervures des feuilles

Les feuilles ont une nervation primaire pennée. La clarification montre des nervations secondaires de type camptodrome brochidodrome : les nervures secondaires fusionnent en formant une série d'arcs proéminents (Figure n°16). Cette uniformité de la nervation secondaire serait caractéristique du sous-genre *Coffea*.



Figure n°16 : Nervures secondaires brochidodromes

III. 1. 3. Structures des tissus vasculaires du pétiole

Dans une coupe transversale du pétiole, le tissu vasculaire varie en forme et structure selon les taxa et selon le niveau de coupe proximale ou distale.

Il est composé de (Photo n°24) :

- o Faisceaux libéro-ligneux (FLL) dorsaux et FLL latéraux ;
- o Stèle de FLL principal: phloème et xylème ;
- o Sclérenchyme périvasculaire.

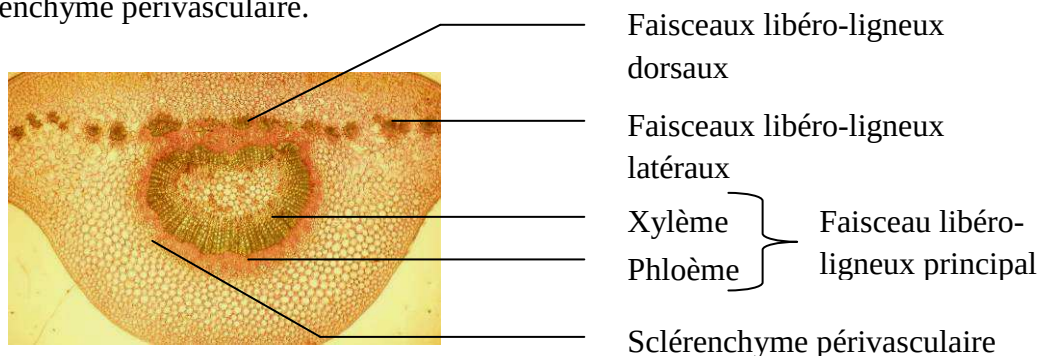


Photo n°24: CT du pétiole montrant les tissus vasculaires chez *C. sambavensis*.

Seuls les résultats issus de la coupe proximale et distale sont considérés, étant donné qu'aucune différence remarquable n'est observée entre les 2 parties proximale et médiane ou médiane et distale. L'allure de la vascularisation principale dans les deux parties est le caractère considéré important à décrire pour la description du pétiole.

A propos de la structure de cette vascularisation, deux cas sont observés :

- Soit la même structure de vascularisation pour la coupe distale et la coupe proximale ;

- Soit la tendance à une simplification de cette structure vers la partie distale, c'est-à-dire que si au niveau proximal, on a une structure complexe (exemple FLL principal ouvert et invaginé, Photo n°25) elle devient simple au niveau distal (exemple FLL principal disposé sur un cercle fermé, Photo n°26).

Chez la plupart des espèces le FLL principal est surmonté de deux à trois FLL dorsaux et un à trois FLL latéraux sauf chez les Subterminales. Chez *C. richardii*, le FLL principal est surmonté d'une plaque dorsale dans la partie proximale et dans la partie distale du pétiole.

Le sclérenchyme périvasculaire est absent chez :

- o les Multiflorae : *C. perrieri*, *C. vianneyi*, *C. ankaranensis*, *C. andrambovatensis*, *C. resinosa* A 915 et *C. mangorensis* ;
- o le Subterminales *C. pervilleana* ;
- o le Verae *C. lancifolia* ;
- o les complexes Millotii : *C. millotii* et *C. dolichophylla*.

Il est présent mais discontinu chez :

- o les Multiflorae : *C. perrieri* A 12, *Coffea* sp A315 ;
- o les Garcinioïdes ;
- o Le Subterminales *C. sakaraha* ;
- o *Coffea sambavensis* A 955.

Le sclérenchyme est sous forme d'un cercle complet chez le Multiflorae *C. resinosa* ; le Verae *C. kianjavatensis* et les complexes Millotii : *C. farafanganensis*, *C. richardii* et *Coffea* sp A 904.

Les coupes transversales (partie proximale et partie distale) du pétiole montrent trois types de vascularisations :

- Le faisceau libéro-ligneux principal est en forme de stèle ouverte dans la partie proximale (Photo n°25) et en forme de stèle fermée dans la partie distale (Photo n°26) chez :
 - les Multiflorae : A18, A5, A946, A305, A311, A525, A808, A315;
 - les Subterminales ;
 - les Verae ;

- les Millotii *C. dolichophylla* et *Coffea sambavensis* A 955.

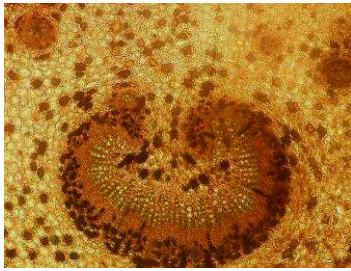


Photo n°25: Stèle ouverte dans la partie proximale du pétiole chez *Coffea* sp A315.

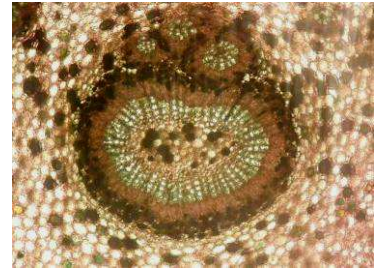


Photo n°26: Stèle fermée arrondie dans la partie distale du pétiole chez *Coffea* sp A315.

- Le faisceau libéro-ligneux principal est disposé en stèle fermée (Photo n°27, Photo n°29) dans la partie proximale (PP) et reste inchangé chez *C. perrieri* A 12 (Photo n°28) ou devient plus ou moins évasée à symétrie bilatérale dans la partie distale (PD) chez *C. richardii* A 575 (Photo n°30) ;



Photo n°27 : Stèle fermée avec 2 faisceaux libéro-ligneux latéraux dans PP du pétiole chez *C. perrieri* A 12.

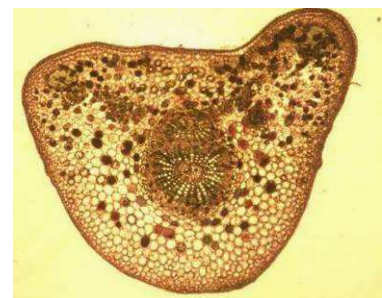


Photo n°28 : Stèle fermée arrondie dans PD du pétiole chez *C. perrieri* A 12.

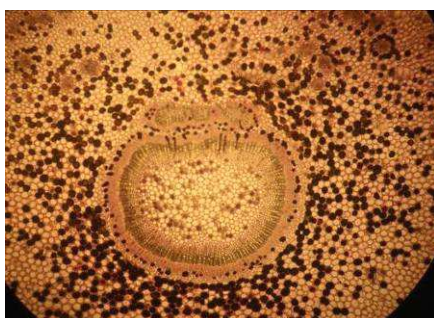


Photo n°29: Stèle fermée et arrondie avec une plaque dorsale dans PP du pétiole chez *C. richardii*.

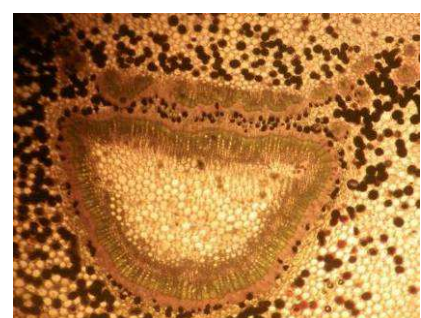


Photo n°30: Stèle fermée triangulaire avec une plaque dorsale dans PD chez *C. richardii*.

- Le faisceau libéro-ligneux est en forme d'arc aux extrémités incurvées dans la partie proximale et reste inchangé dans la partie distale chez *C. millotii*.

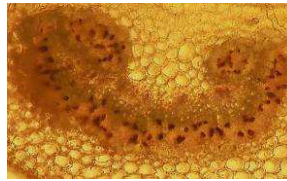


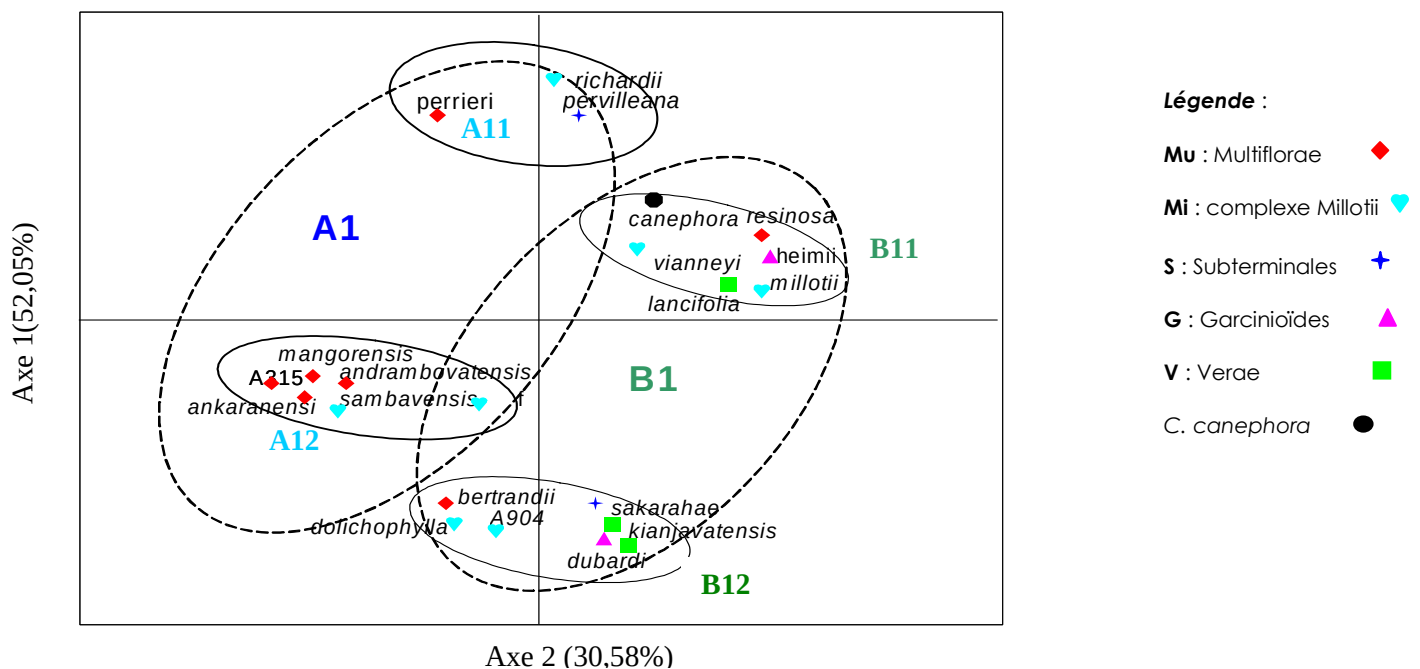
Photo n°31: Partie proximale et distale en arc aux extrémités incurvées chez *C. millotii*.

III. 2. Traitements des données

L'Analyse Factorielle de Correspondance (AFC) et la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) ont été appliquées dans un premier temps simultanément sur les variables des caractères de la tige, les variables des caractères des feuilles et les variables sur les caractères des faisceaux libéro-ligneux du pétiole pour les 27 populations représentant les 5 séries botaniques de *Mascarocoffea*. Les deux méthodes ont été ensuite appliquées sur l'ensemble des variables (tige, feuille, pétiole). Les regroupements des populations peuvent être lus soit dans l'espace représenté par les deux axes principaux de l'AFC soit sur le dendrogramme issu de la CAH et construit à partir des indices de ressemblances.

III. 2. 1. Relation entre les caractères anatomiques de la tige et les populations.

Le plan [1,2] de l'AFC (72,63 % d'inertie expliquée) montre 2 grands groupes et 4 sous groupes (Graphe n°1).



Graphe n°1 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'AFC sur les caractères anatomiques de la tige.

Le groupe A₁ possédant les caractères sclérenchyme discontinu (TSD) et absence de poil (TP0) sur la tige, est divisé en deux sous groupes :

- Le sous-groupe A₁₁ lié par le caractère absence de fibre phloemienne (TF0), est composé des trois espèces : *C. perrieri*, *C. pervilleana* et *C. richardii* ;
- Le sous-groupe A₁₂, ayant le caractère présence de fibre phloemienne (TFP) est composé des Multiflorae : *C. mangorensis*, *C. ankaranensis*, *C. andrambovatensis* et de *C. sambavensis*.

Le groupe B₁ caractérisé par le sclérenchyme continu dans la tige (TSC) et la présence de poils sur la tige (TPP), est divisé en :

- sous groupe B₁₁, lié par le caractère absence de fibre phloemienne (TF0), est composé de:
 - o Complexes Millotii : *C. millotii*, *Coffea* sp A904 ;
 - o Multiflorae : *C. resinosa* et *C. vianneyi* ;
 - o la Garcinioïdes : *C. heimii*.
- sous groupe B₁₂, opposé au sous-groupe B₁₁ par le caractère présence de fibre phloemienne (TFP), est composé de :
 - o Vraie *C. kianjavatensis* et *C. lancifolia* ;
 - o Complexe Millotii : *C. dolichophylla* ;
 - o Multiflorae : *C. bertrandi* ;
 - o Subterminales : *C. sakarahae* ;
 - o Garcinioïdes : *C. dubardi*.

L'espèce témoin *C. canephora* est placée dans le sous groupe B₁₁ et possède les caractères : absence de fibre phloemienne (TF0), sclérenchyme continu dans la tige (TSC), et présence de poils sur la tige (TPP).

La répartition des espèces par l'AFC est identique aux regroupements obtenus par la CAH (Figure n°17) pour les groupes A₁ et B₁. Une forte similitude entre résultats de l'AFC et de la CAH est également constatée au deuxième niveau d'agrégation en 4 sous groupes, à quelques petites exceptions près : *Coffea* sp A904 que l'AFC place dans le sous-groupe B₁₂ est par exemple classée par la CAH dans le sous-groupe B₁₁. Ceci peut s'expliquer, d'une part, par le

fait que seules les coordonnées des individus sur les 3 axes factoriels les plus discriminants ont servi de données de base dans l'élaboration de la CAH, et d'autre part, par le fait que plus la distance de ségrégation est faible, plus la discrimination entre individus devient moins précise.

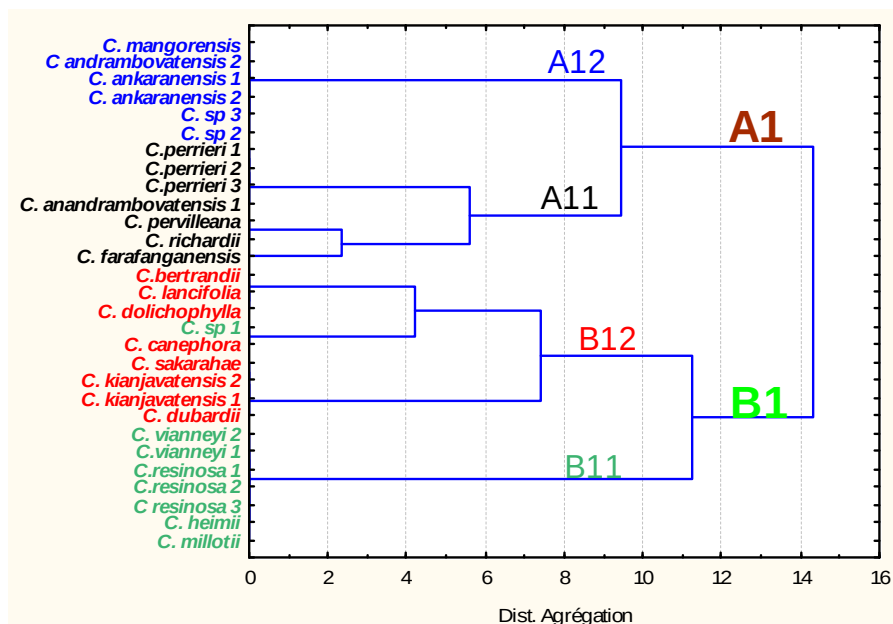
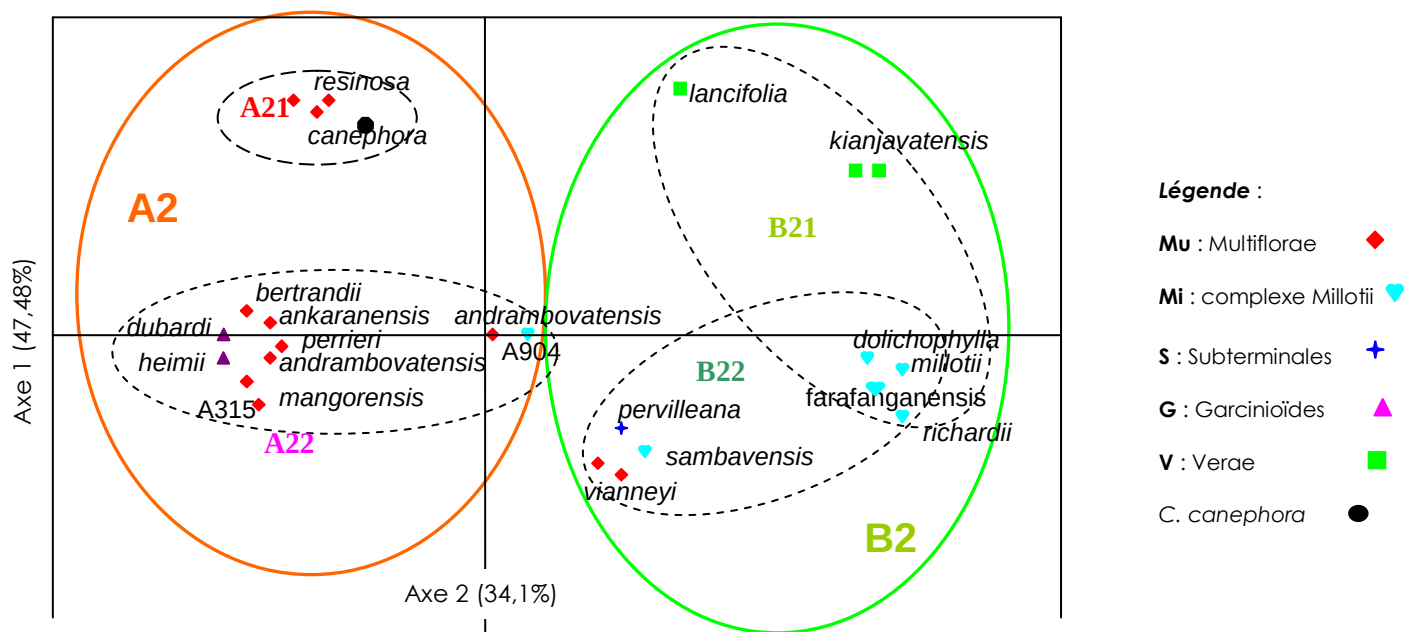


Figure n°17 : Dendrogramme des populations par la CAH des variables sur la tige.

III. 2. 2. Relation entre les caractères anatomiques de la feuille et les populations

Le plan [1,2] de l'AFC (81,56 % d'inertie expliquée) montre 2 grands groupes et 4 sous groupes (Graphe n°2) :



Graphe n°2 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'AFC sur les caractères anatomiques des feuilles.

- Le groupe A₂ possédant le caractère parenchyme palissadique bisérié (FPPB) est divisé en deux sous groupes :

- Le sous-groupe A₂₁ caractérisé par l'absence de sclérites (FST0), composé uniquement de Multiflorae *C. resinosa* ;
- L'autre sous groupe A₂₂, où au contraire les sclérites sont présentes (FSTP), formé par :
 - o les autres Multiflorae à l'exception de *C. vianneyi* et *C. resinosa* ;
 - o toutes les Garcinioïdes ;
 - o la Subterminales *C. sakaraha*.

- Le groupe B₂ caractérisé par la présence de parenchyme palissadique unisérié (FPPU) est également divisé en 2 sous-groupes selon la présence ou non de sclérites:

- sous groupe B₂₁, sans sclérites (FST0), composé uniquement des Verae *C. lancifolia* et *C. kianjavatensis* ;
- sous groupe B₂₂, à sclérites (FSTP), formé par :
 - o l'ensemble des espèces du complexe Millotii ;
 - o la Multiflorae *C. vianneyi* ;
 - o la Subterminales *C. pervilleana*.

L'espèce témoin *C. canephora* se situe dans le sous groupe A₂₁ (sclérites absentes et parenchyme palissadique bisérié).

Conformément à ce que nous avons pu constater plus haut pour les tiges, nous retrouvons pour les caractéristiques des feuilles une bonne similarité entre les résultats de l'AFC et de la CAH (Figure n°18) pour les 2 grands groupes A₂ et B₂. De même, la subdivision en sous-groupes au sein du groupe A₂ de l'AFC est conforme à celle de la CAH. Par contre, elle devient moins nette pour le groupe B₂ à cause probablement de l'interférence d'autres variables sur les 3 axes pris en compte dans la classification.

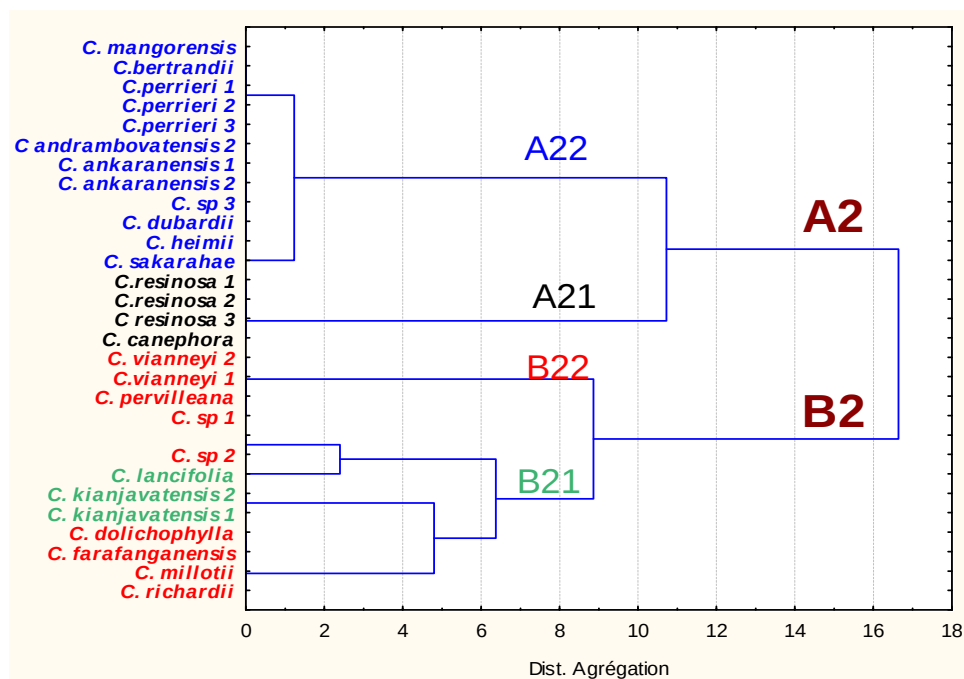
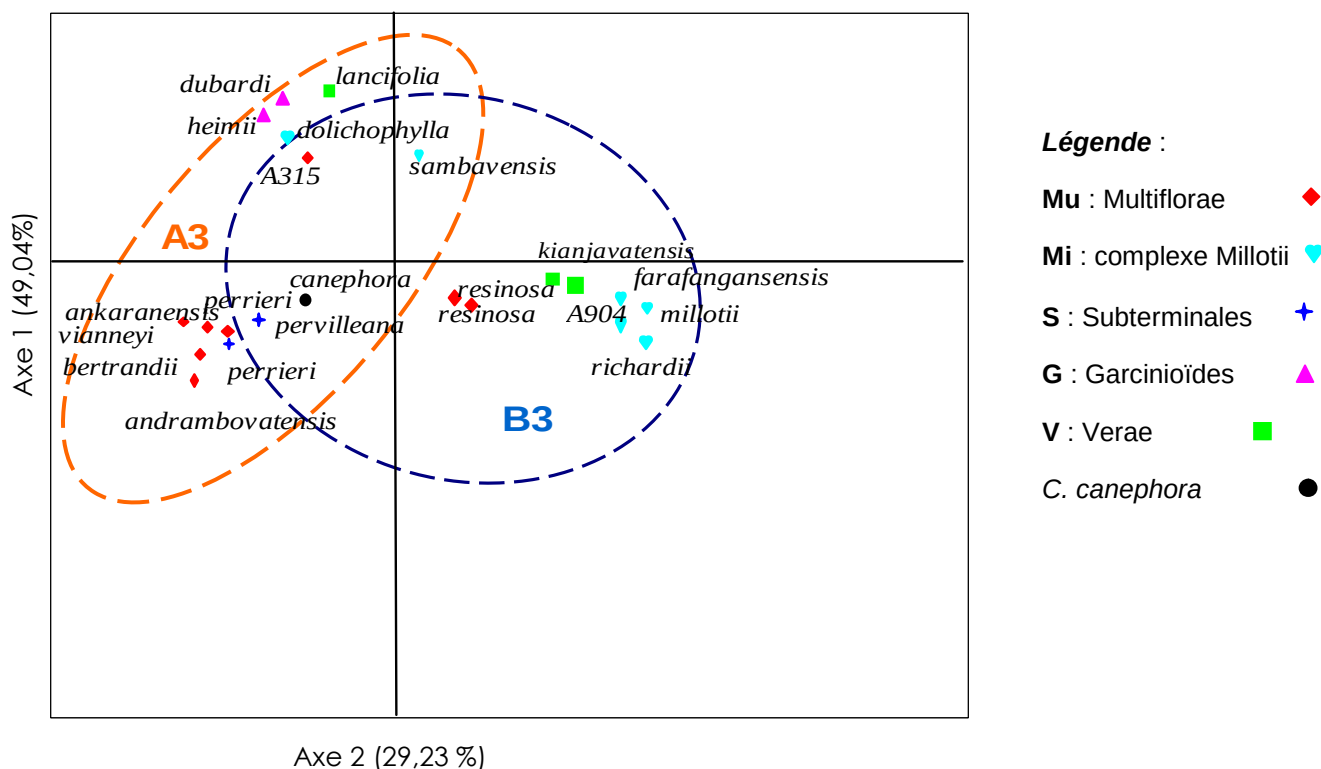


Figure n°18 : Dendrogramme des populations par la CAH des variables des feuilles.

III. 2. 3. Relation entre les caractères anatomiques du pétiole et les populations.

Le plan [1,2] de l'AFC (78,27 % d'inertie expliquée) montre 2 grands groupes (Graphe n°3) :



Graphe n°3 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'AFC sur les caractères anatomiques des pétioles.

- Le groupe A₃ possédant le caractère partie proximale en arc ouvert (PPA0) composé de
 - o Garcinioïdes : *C. dubardii* et *C. heimii* ;
 - o Multiflorae : *C. bertrandi*, *C. ankaranensis*, *C. perrieri*, *C. vianneyi*, *C. andrambovatensis*, *Coffea* sp A315 ;
 - o Complexe Millotii : *C. dolichophylla*, *Coffea* sp A904 et *C. millotii* ;
 - o Subterminales : *C. sakarahae*.

Le groupe B₃, opposé au groupe A₃ par le caractère partie proximale en stèle fermée (PPAF), composé de :

- o Multiflorae : *C. resinosa* ;
- o Complexe Millotii : *C. farafanganensis*, *C. richardii*, *Coffea* sp A904 et *C. sambavensis* ;
- o Verae : *C. kianjavatensis* et *C. lancifolia* ;
- o Subterminales : *C. pervilleana*.

L'espèce témoin *C. canephora* se situe dans le sous groupe A₃.

Les 2 groupes de l'AFC sont similaires aux regroupements obtenus par la CAH (Figure n°19). La séparation en sous-groupes suggérée par la CAH est par contre non conforme aux résultats de l'AFC. Devant ce fait, nous ne tiendrons compte que des 2 grands groupes A₃ et B₃.

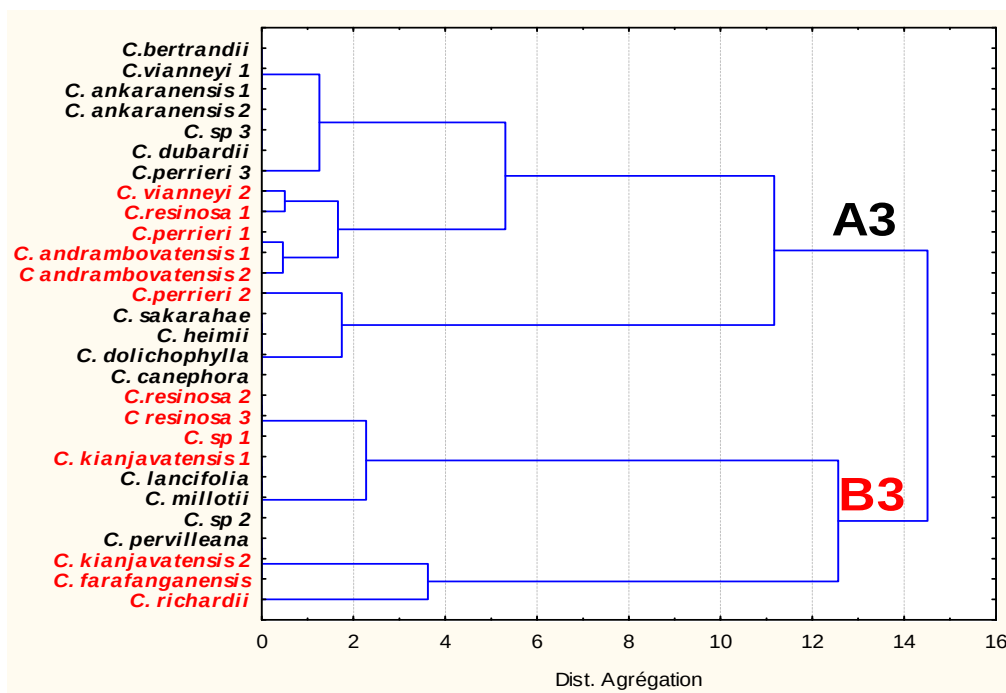
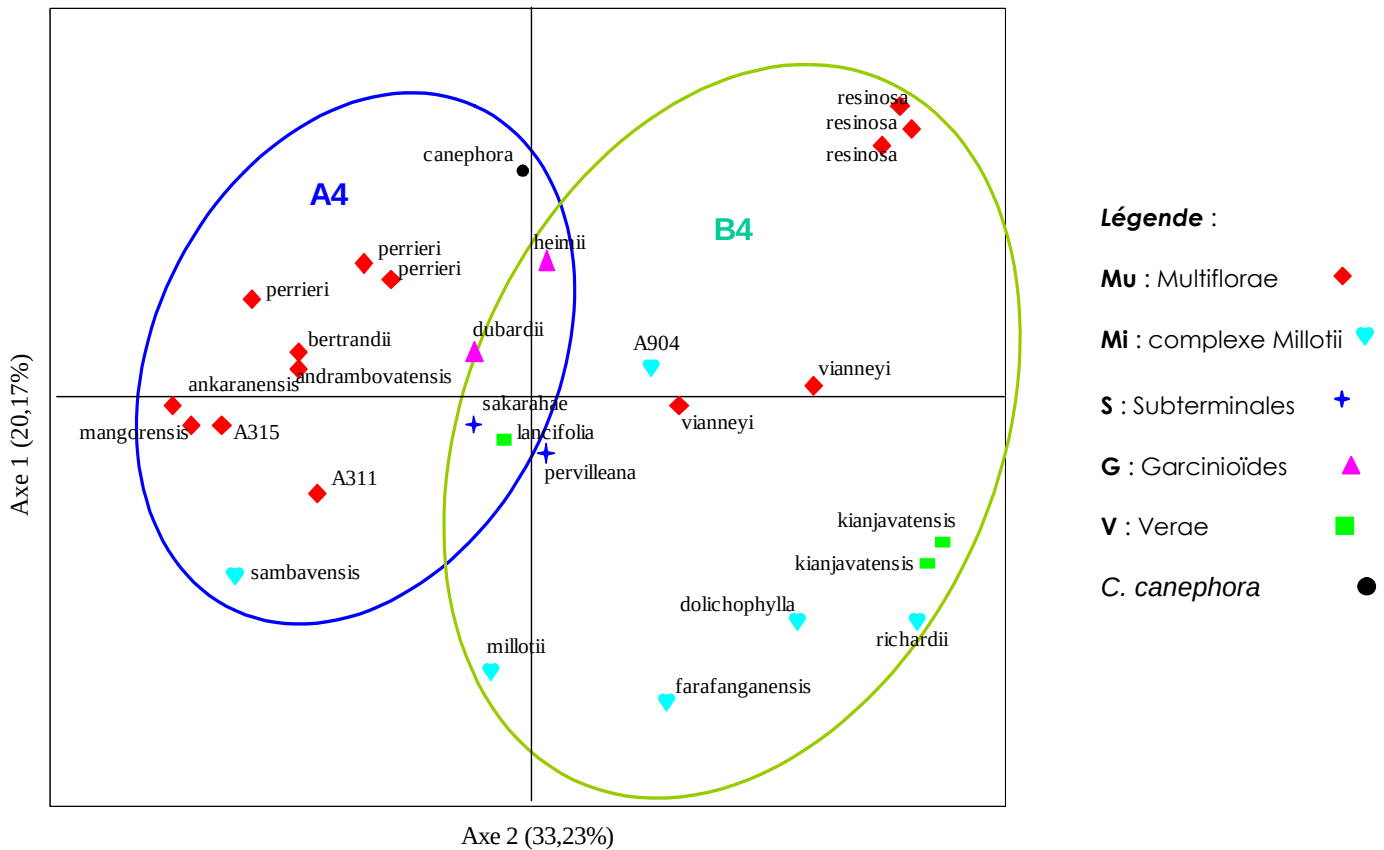


Figure n°19 : Dendrogramme des populations par la CAH des variables du pétiole.

III. 2. 4. Relation entre l'ensemble des caractères anatomiques et les populations.

Le plan (1,2) de l'AFC (53,4% d'inertie expliquée) montre 2 grands groupes (Graphe n°4)



Graphe n°4 : Représentation des populations dans le plan [1,2] de l'AFC sur les caractères anatomiques des tiges, feuilles et pétioles.

- Le groupe A₄, possédant les caractères :

- des tiges : sclérenchyme discontinu, fibre phloemienne présente et poils unicellulaires absents (TS0, TFP, TP0) ;
- des feuilles : parenchyme palissadique bisérié, stomate de type paracytique et sclérites présentes (FPPB, FSOP, FSTP) ;
- et des pétioles : partie proximale en arc ouvert et partie distale en stèle fermée (PPAO, PDAF) ;

est formé par :

- la majorité des Multiflorae sauf *C. vianneyi* et *C. resinosa* ;
- les Garcinioïdes : *C. dubardii* et *C. heimii* ;
- les Subterminales : *C. sakarahae* et *C. pervilleana* ;
- la Verae *C. lancifolia*.

- Le groupe B₄ possédant les caractères :

- des tiges : sclérenchyme continu, fibre phloemienne absente et poils unicellulaires présents (TSC, TF0, TPP) ;
- des feuilles : parenchyme palissadique unisériel, stomate de type anomocytique et sclérites absentes (FPPU, FSOA, FST0) ;
- des pétioles à partie proximale en stèle fermée (PPAF),

est composé de :

- la majorité des espèces/populations du complexe Millotii A206, A208, A575 et A904 à l'exception de *C. sambavensis* ;
- Verae : *C. kianjavatensis* ;
- Multiflorae : *C. vianneyi* et *C. resinosa*.

L'espèce témoin *C. canephora* est placée dans le groupe I.

On retrouve le même regroupement dans le dendrogramme obtenu à partir de la CAH, à l'exception de *C. pervilleana*, classées dans le groupe B₄ par la CAH, alors qu'elle était dans le groupe A₄ d'après l'AFC. Ceci est dû au fait que cette espèce située presque au milieu du plan factoriel [1,2] de l'AFC est mal corrélée aux facteurs discriminants de ce plan.

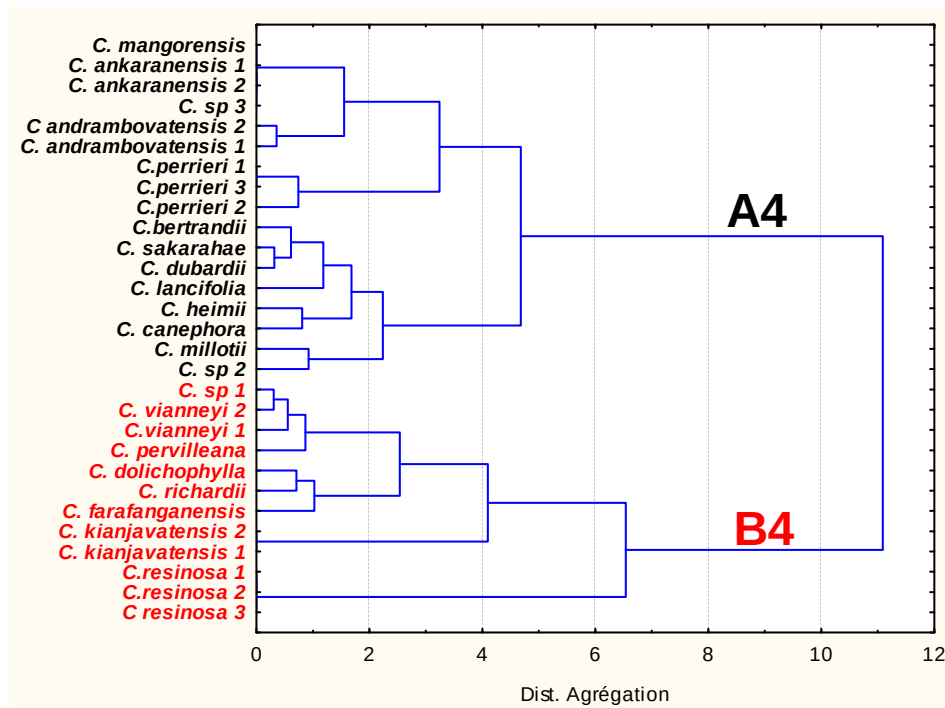


Figure n°20 : Dendrogramme des populations par la CAH des variables tige, feuille et pétiole.

III. 2. 5. Variation de la densité des stomates en fonction des séries, espèces et génotypes

Les résultats de l'analyse de variance concernant la densité de stomates sont donnés dans le Tableau IV.

Tableau IV : Analyse de variance de la densité des stomates

Source de variation	DL	SC	CM	Fobs	P	significativité
Série	4	223159	55789,7	0,8	0,69	NS
Espèce\Série	10	625809	62580,8	8,36	0,000	***
Génotypes\Espèce	45	336601	7480	15,33	0,000	***
Résidus	240	117090	487,8			
Total	299	1302659	4356,7			

Avec : DL: degré de liberté ; SC: somme des carrés ; CM: carré moyen

Fobs: valeur observée du rapport de variance pour le test F de Snedecor

P : probabilité si $P > 0,05 = \text{NS}$;
 $0,01 < P < 0,05 = \text{significatif}$;
 $P < 0,01 = \text{hautement significatif}$.

NS: non significatif ; *****:** hautement significatif ;

Les tests sont hautement significatifs pour les deux facteurs aléatoires « espèce » et « génotypes ». Autrement dit, il existe un effet « génotype à l'intérieur des espèces » et un effet « espèce à l'intérieur des séries » ; par contre aucune différence significative ne peut être décelée entre les moyennes des densités de stomates des 5 séries.

La décomposition des variances permet de calculer l'estimation des variances factorielles:

$$\sigma^2_{\text{génotype}} = (\text{CM}_{\text{génotype}\backslash\text{espèce}} - \text{CM}_{\text{res}})/n = 1398,4$$

$$\sigma^2_{\text{espèce}} = (\text{CM}_{\text{espèce}\backslash\text{série}} - (\text{CM}_{\text{génotype}\backslash\text{espèce}})/np) = 2755$$

Avec : **n** = répétitions/génotype = 5 ; **r** = nombre génotypes/population = 4 ;
q = nombre espèces/série = 3 ; **p** = nombre de séries = 5 ; **res** : résidus.

D'où les coefficients de corrélation intra- classe (annexe 5)

$$R_{\text{espèce}} = 0,30 ;$$

$$R_{\text{génotype}} = 0,59 ;$$

$$R_{\text{résiduel}} = 0,10 .$$

On peut en conclure que la contribution des variances liées aux génotypes et aux espèces par rapport à la variance totale sont respectivement de 59% et 30%. Autrement dit, la variance génétique pour la densité des stomates représente 89% de la variance phénotypique.

En considérant les populations étudiées comme « fixe » (tirage non aléatoire), nous pouvons appliquer la comparaison des moyennes (Tableau V) laquelle ne peut être extrapolée à d'autres populations non incluses dans l'analyse.

Tableau V: Comparaison multiple des moyennes des densités des stomates en fonction des populations.

Population	Densité moyenne (/mm ²)	Groupes				
		1	2	3	4	5
<i>C. pervilleana</i>	119,3	a				
<i>C. dolichophylla</i>	121,8	a				
<i>C. abbayesii</i>	145,9		b			
<i>C. farafanganensis</i>	151,9		b			
<i>C. bertrandii</i>	159,1		b			
<i>C. kianjavatensis A 213</i>	165,3		b			
<i>C. dubardi</i>	169,8		b			
<i>C. ankaranensis</i>	177,1		b			
<i>C. kianjavatensis A 602</i>	177,2		b			
<i>C. mogeneti</i>	206,0			c		
<i>C. sakaraha</i>	212,8			c		
<i>C. tsirananae</i>	239,0				d	
<i>C. tetragona</i>	262,3					e
<i>Coffea</i> sp A315	286,5					e
<i>C. lancifolia</i>	287,6					e

Ce tableau montre que :

- La densité stomatique varie du simple au triple pour les espèces/populations étudiées : elle est faible (119,9-121,8 mm²) chez *C. pervilleana* et *C. dolichophylla* ; élevée (262,3-287,6 mm²) chez *Coffea* sp A315, *C. tetragona*, et *C. lancifolia* ;
- La valeur de la densité des stomates ne dépend pas des séries botaniques : des espèces/populations appartenant à une même série botanique peuvent avoir des densités des stomate très différentes. Ceci est illustré à titre d'exemple par la série Garcinioïdes : *C. dubardi* (165,3), *C. mogeneti* (206), *C. tetragona* (262,3) ;
- Enfin la densité des stomates n'est pas corrélée à la taille des feuilles. En effet $r_{\text{calculé}}$ (0,25) est inférieur au r_{table} (0,51) à un degré de liberté égal à 13 et au seuil de 5 %. A titre d'exemple, *C. farafanganensis* l'espèce ayant les feuilles les plus grandes parmi les *Mascarocoffea*, affiche une densité faible de 151,9 ; alors que les petites feuilles de *C. tsirananae* présentent une moyenne de 239 stomates par mm².

Le facteur « espèce » étant lui même significatif, nous pouvons calculer le coefficient de corrélation intra-classe (Tableau VI) de chaque population à partir des analyses de variance à un facteur.

Tableau VI : Estimation des parts de la variation de la densité pour chaque population.

SERIE BOTANIQUE	Population	Coefficient de corrélation intra-classe
MULTIFLORAE	<i>C. bertrandii</i>	0,57***
	<i>Coffea</i> sp A 315	0,95***
	<i>C. ankaranensis</i>	0,88***
COMPLEXE MILLOTII	<i>C. dolichophylla</i>	0,85***
	<i>C. abayesii</i>	0,81***
	<i>C. farafanganensis</i>	NS
GARCINIOIDES	<i>C. tetragona</i>	0,68***
	<i>C. mogenetii</i>	0,75***
	<i>C. dubardi</i>	0,58***
SUBTERMINALES	<i>C. pervilleana</i>	0,48***
	<i>C. tsirananae</i>	0,78***
	<i>C. sakarahae</i>	0,31***
VERAE	<i>C. kianjavatensis</i> A 213	0,70***
	<i>C. kianjavatensis</i> A 602	NS
	<i>C. lancifolia</i>	0,58***

Avec NS : non significatif ; *** : significatif au seuil de 0,01.

Ces résultats indiquent que la contribution des pieds (variance génétique) par rapport à la variance totale varie selon les espèces. Elle est très importante pour *Coffea* sp A315 (95%), et nulle pour *C. kianjavatensis* A602 et *C. farafanganensis*.

CHAPITRE IV
DISCUSSION

Au total, 25 caractères qualitatifs ont été examinés dans cette étude anatomique, dont 9 sont polymorphes. Les analyses effectuées sur ces 9 variables n'ont pas permis d'aboutir à des classements suffisamment cohérents avec ceux des botanistes systématiciens (Chevalier, Leroy) et des taxonomistes (Charrier, Bridson), du fait probablement du nombre restreint d'espèces étudiées :

- i- À titre d'exemple, la densité des stomates qui est un caractère à forte héritabilité génétique, d'après les analyses statistiques effectuées, est très variable au sein de chaque série botanique. Ainsi, aucune différence ne peut être décelée entre les éléments de cette classification proposée par les botanistes quand on considère ce caractère.
- ii- Pour l'ensemble des caractères qualitatifs étudiés, les analyses statistiques distinguent deux groupes. Dans le premier groupe on retrouve les Garcinioïdes, les deux Subterminales et la majorité des Multiflorae à l'exception des espèces *C. vianneyi* et *C. resinosa* ; le deuxième groupe ayant des caractères directement opposés aux premiers rassemblent toutes les espèces du Complexe Millotii sauf *C. sambavensis* ; *C. lancifolia* et *C. kianjavatensis* appartenant à la série Verae ne possèdent pas les mêmes caractéristiques anatomiques et se classent respectivement dans le premier et dans le deuxième groupe.
- iii- Quand on décortique les analyses au niveau de chaque organe, l'homogénéité des séries botaniques s'effritent parfois à cause de l'existence de caractères distinctifs qui étaient masqués dans l'analyse globale. *C. heimii* et *C. dubardi* qui appartiennent à la série Garcinioïdes sont par exemple classés dans 2 sous-groupes différents tout simplement du fait de la présence ou non de fibre phloémienne dans les tiges. Chez les Multiflorae, *C. perrieri* et *C. resinosa* se classent dans deux sous-groupes différents : le premier ayant des tiges sans poils unicellulaires, à sclérenchyme discontinu et des feuilles à parenchyme palissadique bisérié ; tandis que le deuxième dispose de tiges à poils, à sclérenchyme continu et des feuilles à parenchyme palissadique unisérié. Cette différenciation entre espèces d'une même série s'observe également dans le Complexe Millotii et chez les Subterminales. Seule la série Verae paraît homogène quel que soit le niveau des analyses,
- iv- Par contre, aucune différence entre populations d'une même espèce n'a pu être décelée dans notre cas, contrairement aux résultats des analyses de la diversité biochimique des *Mascarocoffea* effectuées par Rakotomalala (1993).

Ces analyses apportent cependant de nouvelles informations importantes :

i- Quand il y a des variations de caractères, en général ce sont des caractères de résistance et d'adaptation à des contraintes de l'environnement :

- Par exemple pour la tige, la présence de poils combinée avec le sclérenchyme continu et la présence de fibres phloémiennes seraient des caractères d'adaptation à un écosystème passagèrement déficient en eau. Ces deux caractères sont rencontrés par exemple chez *C. sakarahaë*, *C. dubardi*, *C. heimii* et *C. resinosa* qui sont respectivement originaires des forêts subhumides de l'ouest, des forêts sèches sur calcaire du nord et des forêts littorales sur sable de l'Est. La présence de poils sur les tiges et/ou les feuilles peut en outre jouer divers rôles tel que repousser les insectes parasites ou au contraire attirer les pollinisateurs (Gurr et Grath, 2002). Selon Wagner (1991), les poils peuvent même avoir des effets positifs ou négatifs sur la photosynthèse, réguler la température de la feuille ou la perte d'eau à travers la diminution de la lumière réfléchie, voire décourager les herbivores, comme c'est le cas pour certaines espèces du désert.

- A l'opposé, le sclérenchyme discontinu combiné à l'absence de poils et de fibres phloémiennes dans la tige semblent typique des espèces provenant des endroits humides. C'est le cas par exemple de la Subterminales *C. pervilleana*, de *C. richardii*, *Coffea* sp A904 et *C. sambavensis* du complexe Millotii et de l'espèce témoin *C. canephora*, lesquelles sont natives des forêts denses humides de type tropicale ; il en est de même pour la Multiflorae *C. perrieri*, laquelle s'adapte parfaitement aux forêts galeries en bord de rivière, grâce à sa racine principale qui s'enfonce jusqu'au niveau de la nappe phréatique.

- Cependant, des exceptions sont observées avec l'espèce *C. millotii* du complexe Millotii et l'espèce *C. vianneyi* de la série Multiflorae, qui tout en étant natives des forêts denses humides, possèdent des tiges à poils et à sclérenchymes continus.

ii- Welkie *et al.* (1989), ayant travaillé sur des espèces de Chenopodiaceae, associent l'anatomie des feuilles à la voie photosynthétique empruntée. Les résultats de leurs études ont montré que les espèces à parenchyme palissadique unisériel optent pour la voie photosynthétique de type C3, tandis que celles dont le parenchyme assimilateur est bisériel adoptent la voie photosynthétique en C4. Cette dernière fut considérée par les mêmes auteurs comme une bonne adaptation à la sécheresse. Le constat de ces auteurs rejoint les observations que nous avons faites chez les *Mascarocoffea*. Effectivement dans notre cas, la plupart des taxons possédant le caractère parenchyme palissadique

bisérié sont localisés dans des écosystèmes relativement ou momentanément secs comme les forêts littorales sur sable (*C. resinosa*), les forêts denses sur calcaire (*C. dubardi*, *C. heimii*), et les forêts subhumides de l'ouest (*C. sakaraha* et *C. ankaranensis*). A l'inverse, les espèces à parenchyme palissadique unisérié (*C. kianjavatensis*, *C. lancifolia*, *C. vianneyi* et les taxons du complexe Millotii) sont tous originaires des forêts denses humides sempervirentes orientales. La confirmation ou non, et la généralisation de l'hypothèse posée par ces auteurs pourraient ainsi être fixées par l'analyse de toutes les espèces de *Mascarocoffea*.

iii- Les résultats des analyses de la variance sur la « densité des stomates » montrent la forte héritabilité de ce caractère. Les valeurs des coefficients intra-classes, qui en découlent dévoilent cependant que la répartition de la variance totale entre les effets testés dépend des espèces étudiées. On peut à l'extrême tomber sur des espèces monomorphes à variabilité nulle (*C. farafanganensis*, *C. kianjavatensis* A602). Cette absence de polymorphisme pourrait être due au nombre restreint d'individus analysés, mais elle serait aussi probablement liée, soit (a) au nombre limité d'échantillonnage récolté in situ, soit (b) parce que la population originelle était dès le départ à variabilité restreinte consécutive à un isolement génétique, soit (c) tout simplement parce que les individus actuels dérivent de multiplications par boutures.

iv- D'après nos résultats, les espèces à faible densité de stomates (*C. dolichophylla*, *C. abbayesi*, *C. kianjavatensis*, *C. pervilleana*,...) proviennent majoritairement des forêts denses humides. S'agit-il une fois de plus d'une forme d'adaptation aux conditions du milieu originel ? Pour pouvoir répondre à cette question, il faudrait élargir les investigations à d'autres populations existantes in- et ex-situ. Effectivement, des exceptions à cette tendance générale peuvent être observées comme c'est le cas pour *C. lancifolia* et *Coffea* sp A315, dont les densités de stomates sont deux fois plus importantes que celles des espèces les moins pourvues, alors qu'elles sont également originaires des forêts humides de l'Est.

v- Dans la présente étude, des substances chimiques non identifiées de couleur marron ou jaune verdâtre (au carmino-vert) ont été observées dans les cellules du phloème, du parenchyme assimilateur des feuilles et des pétioles, et dans les cellules du collenchyme et du parenchyme médullaire des tiges.

- La mise en évidence de cellules remplies de tannins dans les feuilles et pétioles de *C. canephora* a été signalée par Mariani dès 1908.

- Metcalf et Chalk (1950) ont observé que des cellules sécrétrices dont ils n'ont pas pu identifier le contenu sont localisées dans le parenchyme et dans le phloème du pétiole des espèces du genre *Coffea*.

- Robbrecht (1988) a rapporté la présence d'alcaloïdes indoliques, quinoliques et isoquinoliques chez les Rubiaceae.

- Les études effectuées par Rakotomalala (1993) ont montré la grande diversité du contenu en composés chimiques des graines de *Mascarocoffea*. Cette variabilité est retrouvée dans les feuilles (Andriamialiharisoa, Ratsimbazafy, communication personnelle).

L'application des techniques histochimiques développées sur diverses espèces de caféiers par Sole (2006) et Mondolot *et al.* (2006) pourrait aider dans l'identification de ces substances.

vi- Les résultats de nos observations sur les types de stomates semblent indiquer que la section *Mascarocoffea* a subi une différenciation spécifique récente, voire est toujours en cours de diversification.

- Effectivement, d'après Saint Martin (1982), la présence de deux ou plusieurs types de stomates indique qu'un taxon est en pleine évolution. Kadi-Bennane *et al.* (2005) travaillant sur l'espèce *Pistacia atlantica* proposait la place de cette espèce dans un pallier évolutif élevé à cause de la présence de stomates de type paracytique. Selon ces auteurs, le stomate de type anomocytique (sans cellules accessoires) serait plus primitif que le stomate de type paracytique (deux cellules accessoires). Le stomate de type tetracytique, avec quatre cellules accessoires serait indicateur d'une évolution très récente. Or, ces 3 types de stomates sont recensés dans les espèces de *Mascarocoffea* étudiées

- Dans le tableau VII suivant, la diversité des acides hydroxycinnamiques présents dans les graines de différentes espèces de *Mascarocoffea* est présentée en parallèle avec les types de stomates. Si l'on se réfère à la voie de biosynthèse des acides hydroxycinnamiques proposée par Gross (1981) et modifiée par Rakotomalala (1993) [Annexe 6], l'évolution des composés irait des structures simples hydroxylées (-OH) telles les acides coumariques et caféiques vers les structures méthylées (-CH₃) telles les acides féruliques, mono-, di- et tri-méthoxycinnamiques.

Tableau VII : Résultats des analyses biochimiques (Rakotomalala, 1993) combinés au caractère morphologique « type de stomates »

Type de stomates	Taxon/accession	o-Cou	p-Cou	Caf	Fer	Sin	triM	diM
ANOMOCYTIQUE	<i>C. dol</i> A206							
	<i>C. mil</i> A219							
	<i>C. far</i> A208							
	<i>Coffea</i> sp A904							
	<i>C. rich</i> A575							
	<i>C. kia</i> A602							
	<i>C. kia</i> A213							
	<i>C. lan</i> A 320							
	<i>Coffea</i> sp A311							
PARACYTIQUE	<i>Coffea</i> sp A315							
	<i>C. ank</i> A525							
	<i>C. and</i> A227							
	<i>C. ank</i> A808							
	<i>C. per</i> A12							
	<i>C. per</i> A305							
	<i>C. per</i> A724							
	<i>C. res</i> A8							
	<i>C. res</i> A915							
	<i>C. man</i> A18							
	<i>C. ber</i> A5							
	<i>C. dub</i> A36							
	<i>C. hei</i> A516							
	<i>C. can</i>							
	<i>C. perv</i> A957							
TETRACYTIQUE	<i>C. sak</i> A304	?	?		?	?	?	?

o-Cou : acide ortho-coumarique
p-Cou : acide para-coumarique
Caf : acide caféique
Fer : acide ferulique
Sin : acide sinapique
triM : acide triméthoxycinnamique
diM : acide diméthoxycinnamique

Multiflorae
Complexe Millotii
Verae
Garcinioides
Subterminales
Coffea canephora



L'examen de ce tableau suggère que *C. dolichophylla* et *C. millotii* A219 sont les moins évoluées parmi les espèces analysées (stomate anomocytique et acides hydroxycinnamiques uniquement hydroxylés). L'évolution au sein du groupe « anomocytique » va vers l'accumulation de composés méthylés (*C. farafanganensis*, *C. richardii*, *Coffea* sp A904), mais également avec des évolutions radiatives vers la perte de dérivés p-coumariques (Série

Verae) et/ou l'accumulation d'acide o-coumarique (*Coffea* sp A311). Le même phénomène s'observe dans le groupe « paracytique » où l'on observe le maximum de diversification avec la série Multiflorae. *C. canephora* qui renferme uniquement des acides caféiques et féruliques au même titre que les espèces du nord (série Garcinioïdes) se trouve dans ce groupe. Les espèces de la série Verae que les botanistes considèrent comme les plus proches des caféiers cultivés apparaissent ici plus primitives que ces derniers. *C. sakarahae*, de la série Subterminales, à stomates tetracytiques serait l'espèce la plus évoluée ; malencontreusement sa composition chimique reste inconnue.

vii- Les études récentes réalisées par Anthony *et al.* (2010) suggèrent la région guinéenne comme centre de diversification du sous genre *Coffea*, contrairement à la région kényane proposée par Leroy en 1982. Selon cet auteur, la dispersion des *Coffea* à partir de ce centre d'origine vers l'Afrique de l'Est, puis vers Madagascar et les Iles Mascareignes se faisait après la dislocation du Gondwana. Cette dispersion était rapide et s'accompagnait d'une évolution accélérée des gènes de régulation engendrant la diversification des formes facilitée par la plasticité des caféiers. Ce qui concorde bien avec nos observations précédentes. La position intermédiaire de *C. canephora* mérite tout de même de plus amples investigations. Existerait-il des populations sauvages de *C. canephora* à stomates anomocytiques ? Comme les données biochimiques compilées dans le tableau VII concernent uniquement le contenu des graines, qu'en est-il des molécules synthétisées dans les feuilles mais qui ne sont pas acheminées vers les graines ? Enfin, la prise en compte des autres espèces africaines de l'ouest, du centre et de l'est est indispensable pour consolider cette étude.

CONCLUSION

Bien que la section *Mascarocoffea* ait été créée par Chevalier en 1938, l'étude anatomique n'a été faite que sur quelques caféiers sauvages connus à son époque et originaires des îles Mascareignes. L'analyse de la structure anatomique des tiges, feuilles et pétioles de 18 espèces endémiques de Madagascar sur les 57 décrites au sein de la section *Mascarocoffea* ont été ainsi abordée dans ce mémoire pour combler cette lacune.

Une importante diversité de structures anatomiques a été répertoriée, mais la répartition de cette variabilité ne concorde pas suffisamment avec les subdivisions taxonomiques proposées par les botanistes. Ainsi, si on constate en général l'absence de variation au niveau infra-spécifique, et par contre l'existence d'une forte diversité au niveau interspécifique, nos analyses ne parviennent pas à discerner les regroupements par série botanique proposés par Chevalier (1947) et modifiés par Charrier (1978). De même, il est impossible au niveau actuel de notre étude de distinguer une espèce à partir de combinaisons de caractères anatomiques.

Par contre, il ressort des analyses effectuées que la plupart des caractéristiques anatomiques sont des formes d'adaptation aux milieux originels des espèces de caféiers étudiés. C'est le cas notamment de la densité de stomates, de la présence ou non de poils, ou de fibres phloémienne.

Ces formes d'adaptation sont probablement en relation avec l'histoire évolutive de ces caféiers sauvages de la région malgache, lesquels dérivent au cours d'un temps géologique relativement récent d'un noyau fondateur africain qui a subi des mutations rapides et radiatives. En élément de réponse à la question posée par Charrier (1978) dans l'introduction, « il s'agirait plutôt d'une spéciation rapide faisant suite à une évolution accélérée des gènes de régulation engendrant la diversification des formes d'adaptation ». Plusieurs arguments sont en faveur de cette hypothèse proposée par Anthony *et al.* (2010) tels que :

- a- la grande diversité des structures anatomiques répertoriées, et notamment celles qui sont directement liées à des adaptations évolutives comme (i) le parenchyme palissadique unisériel (voie synthétique de type C3) ou bisériel (C4) ; (ii) la variation des formes de stomates allant du type anomocytique au type tetracytique ;
- b- l'importante variabilité de structures évolutives des acides hydroxycinnamiques qu'on ne retrouve pas chez les *Eucoffea* (Rakotomalala, 1993);
- c- l'impressionnante diversité de formes morphologiques qu'on rencontre même au sein de populations sympatriques (Charrier, 1978);

d- l'appartenance de l'ensemble des espèces de *Mascarocoffea* au même clade à partir d'étude de phylogénie moléculaire (Maurin *et al.*, 2007 ; Anthony *et al.*, 2010).

Pour la suite de ce travail, il serait intéressant d'étendre les recherches (i) par la prise en compte d'autres taxons de *Mascarocoffea* et de caféiers africains, (ii) sur les éventuelles variations de structures anatomiques des racines, des fruits et du bois, (iii) sur l'identification des substances repérées dans les différents tissus. L'élargissement des études *in-situ* sur des échantillons prélevés dans les aires d'origine permettrait de mieux cerner les effets de l'environnement, dont le changement climatique, sur la dynamique des populations naturelles.

La réalisation de toutes ces perspectives nécessite cependant la préservation à long terme de ces caféiers. A Madagascar, malgré les mesures prises par les décideurs successifs, la destruction chronique des forêts naturelles laisse peu d'espoir quant à la conservation *in-situ* de ces importantes ressources génétiques. La maintenance des collections vivantes et la cryoconservation sont les seules alternatives possibles pour conserver ce matériel végétal à semences récalcitrantes. Si les collections vivantes ne sont pas à l'abri de diverses catastrophes naturelles, le coût de leur maintenance est autant exorbitant (Charrier et Berthaud, 1990). Par ailleurs ces deux techniques ne permettent pas de suivre la dynamique qui survient chez les populations naturelles, quoique le coût de la maintenance est relativement moindre pour la cryoconservation (Dulloo *et al.*, 2009).

Face à ces problèmes, il est toujours préconisé d'adopter autant que possible les trois méthodes (conservation *in-situ*, collection vivante et cryoconservation). Pour réduire le coût d'entretien des collections vivantes, la réduction des effectifs tout en essayant de garder le maximum de diversité est recommandée (core collection).

Enfin, il est primordial que les décideurs prennent conscience du rôle régalien de l'Etat sur la préservation durable de ce patrimoine unique que constituent les *Mascarocoffea*.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Andersson, L., 2001.** *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) is a pantropical genus. *Systematics and Geography of Plants* 71.
- Anthony, F., Diniz, L. E. C., Combes, C & Lashermes, P., 2010.** Adaptive radiation in *Coffea* subgenus *Coffea* L. Rubiaceae in Africa and Madagascar. *Plant Syst. Evol.* 285 : 51-64.
- Benzecri, J. P., 1980.** Pratique de l'analyse des données : analyse des correspondances. Dunod éd. 423 p.
- Bertrand, G., 1902.** Recherche et dosage de la caféine dans plusieurs espèces de café. *Bull. Soc. Pharm.* 5: 283-285.
- Beille, L., 1947.** Anatomie comparative du genre *Coffea* et de quelques Rubiacées - Ixorées in Les caféiers de globe. Systématique des caféiers et faux caféiers, Maladie et Insectes nuisibles. 18: 23-82.
- Bremer, B., 1996.** Phylogenetic studies within Rubiaceae and relationships to other families based on molecular data. *Opera Botanica Belgica*, 7: 33-50.
- Bremer, B. & Thulin, M., 1998.** Collapse of Iseretieae, re-establishment of Mussaendae, and a new genus of Sabiceae (Rubiaceae); phylogenetic relationships based on *rbcL* data. *Plant Systematics and Evolution*, 211: 71-92.
- Bremer, B., Andreasen, K. & Olsson, D., 1995.** Subfamilial and tribal relationships in the Rubiaceae based on *rbcL* sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 383-397.
- Bridson, D.M. & Verdcourt, B., 1988.** "Flora of tropical east Africa - Rubiaceae." (Polhill R. M., Ed) Part 2, 727 pp.
- Campa, C., Rakotomalala, J.J.R., de Kochko, A. & Hamon, S., 2008.** Chlorogenic acids: diversity in green beans of wild coffee species. *Advances in plant physiology*. Vol 10: 421-437.
- Charrier A., 1975.** Contribution à l'étude génétique des *Mascarocoffea*. In: *Colloque de l'A.S.I.C.*, Hambourg (RFA), 483-495.
- Charrier, A., 1978.** La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea*). Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (*Eucoffea*). Mémoires ORSTOM N° 87. Paris. 221 p.
- Charrier, A. & Berthaud, J., 1975.** Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. *Café Cacao Thé*, XIX (4): 251-264.
- Charrier A. & Berthaud J., 1990.** Use and value of genetic resources of *Coffea* for breeding and their longterm conservation. In : *Proc. 12th Meeting of AEFAT*, Hambourg, 1988 : 5344.

- Chassevent, F., Ornano M. & Pougneaud, S., 1967.** Composition et caractéristiques chimiques de *Coffea* sauvages de Madagascar. IV. Isolement et étude de la structure de la cafamarine, substance ambrée de *C. buxifolia*. *Café, Cacao, Thé*, XI, 4 : 343-349.
- Chevalier, A., 1938.** Essai d'un groupement systématique des caféiers sauvages de Madagascar et des Iles Mascareignes. *Rev. Bot. Appl. et Agric. Trop.* 825-843.
- Chevalier, A., 1947.** Les caféiers du globe. Fasc. III, Systématique des caféiers et faux caféiers. Maladies et insectes nuisibles. *Encycl. biol.*, XXVIII Tas. III: 1-356.
- Clifford, M., N., Gibson, C. E., Rakotomalala, J.J.R., Cros, E. & Charrier, A., 1991.** Caffeine from green beans of *Mascarocoffea*. *Phytochemistry*, 30, 12 : 4039-4040.
- Coulibaly, I., Noirot, M., Lorieux, M., Charrier, A., Hamon, S. & Louarn, J., 2002.** Introgression of self-compatibility from *Coffea heterocalyx* to the cultivated species *Coffea canephora*. *Theoretical and Applied Genetics*. 105: 994–999.
- Culter, E. G., 1969.** Plant anatomy: experimentation et interpretation. Part I. Adisson Wesley Publishing Company. 168p.
- Davis, A. P., Govaerts, R., Bridson, D. M. & Stoffelen, P., 2006.** An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 152: 465–512.
- Dessein, S., Jansen, S., Huysmans, S., Robbrecht, E. & Smets, E., 2001.** A morphological and anatomical survey of *Virectaria* (African Rubiaceae), with a discussion of its taxonomic position. *Botanical Journal of the Linnean Society* 137: 1-29.
- Ducruix A., Pascard C., Hammonière M. & Poisson J., 1977.** The crystal and molecular structure of mascaroside, a new bitter glycoside from coffee beans. *Acta Cryst.*, B33, 2846-2850.
- Dulloo, M. E., Charrier, A. Dussert, S., Anthony, F., Tesfaye, S., Rakotomalala, J. J. R., Agwanda, C. & Legnate, N., 2001.** Conservation of Coffee Genetic Resources: Constraints and Opportunities in: *19è Colloque de l'ASIC*, Trieste, Italie, CDrom.
- Dulloo, M. E., Ebert, A. W., Dussert, S., Gotor, E., Astorga, C., Vasquez, N., Rakotomalala, J. J. R., Rabemiasara, A., Eira, M., Bellachew, B., Omondi, C., F. Engelmann, F., Anthony, F., Watts, J., Qamar, Z. & Snook, L., 2009.** Cost efficiency of cryopreservation as a long-term conservation method for Coffee genetic resources. *Crop science*, vol. 49.
- Friedman, F., 1970.** Etude biogéographique de *Coffea buxifolia* Chev., *Café, Cacao, Thé*, 14 : 3-12.
- Gaffier, L., 1933.** Annales du Musée Colonial de Marseille. 323p.

- Gross, G., G., 1981.** Phenolic acids. The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Vol 7, E. E. Conn. Ed. (Californie). Pp 301-316.
- Guillaumet, J. L., 1975.** Position systématique et nomenclature du genre *Coconus* et des genres voisins. Rapport multi ORSTOM, 26p.
- Guillaumet, J. L. & Mangenot, G., 1975.** Aspects de la spéciation dans la flore malgache. *Boissiera*. 24a : 119-123.
- Gurr, G. M. & Grath, D., 2002.** Foliar pubescence and resistance to *Potatomos Phthorimaea operculella* in *Lycopersicum corsutum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 103: 35-41.
- Hickey, 1971.** Evolutionary significance of leaf architectural feature in woody dicotyledons. *American journal of Botany*, vol. 5. pp 25-39.
- Jansen, S., Lens, F., Ntore, S., Piesschaert, F., Robbrecht, E. & Smets E., 2001.** Contributions to the wood anatomy of the Rubioideae (Rubiaceae). *Journal of Plant Research*. 14: 269-289.
- Jansen, S., Robbrecht, E., Beeckman, H. & Smets, E., 2002.** A survey of the systematic wood anatomy of the Rubiaceae. *IAWA Journal* 23: 1-67.
- Jensen, A. W., 1962.** Botanical Histochemistry San Francisco & London. W. H. Freeman and company. pp 77-83.
- Judd W., S, Campbell, C., S, Kellog, E. A. & Stevens, P., F., 1999.** Plant systematics: A phylogenetic approach. Sinauer Associates Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts.
- Kadi-Bennane, S., Ait-Said, S. & Smail-Saadoun, N., 2005.** Etude adaptative de trois populations de *Pistacia atlantica* Desf. Ssp. *Atlantica* par le biais du complexe stomatique. *Zaragoza : CIHEAM-IAMZ*, p 365- 368.
- Koechlin, J. J, Guillaumet, L. & Morat, P., 1947.** Flore et végétation de Madagascar. Vaduz-Cramer ed., 678p.
- Lebart, L., Morineau, A. & Tabard, N., 1977.** Technique de la description statistique, méthodes et logiciels pour l'analyse des grands tableaux. Dunod éd., 351p.
- Lebrun J., 1941.** Recherches morphologiques et systématiques sur les caféiers du Congo. Publications de L'institut National pour L'étude Agronomique du Congo Belge 11: 1–186.
- Leroy, J.F., 1961a.** *Coffea novae madagascarienses*. *J. Agric. Trop. et Bot. Appl.*, VIII, 1-2-3: 1-20.
- Leroy, J.F., 1961b.** Sur les trois caféiers endémiques de l'archipel des Mascareignes. *J. Agric. Trop. et Bot. Appl.*, VIII, 1-2-3 : 21-29.
- Leroy, J.F., 1961d.** Notes sur quelques caféiers. *J. Agric. Trop. et Bot. Appl.*, VIII : 537-541.

- Leroy, J.F., 1962a.** Prospection des caféiers sauvages. Rapport préliminaire sur une mission scientifique à Madagascar et aux Iles Mascareignes. (27 avril-15 juillet 1962). *J. Agric. Trop. et Bot. Appl.* IX, 21 : 1-249.
- Leroy, J.F., 1962b.** *Coffeae novae madagascariensis et mauritiana*. *J. Agric. Trop. et Bot. Appl.* IX. 11-12 : 525-530.
- Leroy, J.F., 1962c.** Un caféier nouveau de l'île Maurice. *Coffea bernardiniana* J.F. Ler. (ser. Mauritiana A. Chev.), *J. Agric. Trop. et Bot. Appl.*, IX, 11-12 : 531.
- Leroy, J., F., 1963.** Sur les caféiers sauvages des Iles Mascareignes. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 256.
- Leroy, J., F., 1967.** Recherche sur les caféiers. Sur la classification biologique des Caféiers et sur l'origine et l'aire du genre *Coffea*. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 265 : 1043-1045.
- Leroy, J.F., 1972a.** Prospection des caféiers sauvages de Madagascar: deux espèces remarquables (*Coffea tsirananae* N. SP., *C. kianjavatensis* N. SP.). *Adansonia*. 2, 12, 2 : 317-328.
- Leroy, J.F., 1972b.** Prospection des caféiers sauvages de Madagascar: sur deux espèces Sympatriques du Nord. *Adansonia*. 2, 12, 3 : 345-358.
- Leroy, J.F., 1980.** Evolution de la taxogenèse chez les caféiers (*Coffea* L., *Psilanthus* Hook. F. et *Nostolachma* Durand). Hypothèse sur leur origine. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 291.
- Leroy, J., F., 1982.** L'origine kényane du genre *Coffea* L. et la radiation des espèces à Madagascar. Proceeding of the 10th international scientific colloquium on coffee, Salvador, Brazil. ASIC, Lausanne.
- Louarn, J., 1972.** Introduction à l'étude génétique des *Mascarocoffea* : nouvelles déterminations de leurs nombres chromosomiques. *Café Cacao Thé*, Vol. XVI, N°4 : 312-316.
- Mariani, J., 1908.** Les caféiers. Structure anatomique de la feuille. Lons-le-Saulnier. 39p.
- Maurin, O., Davis, A. P., Michael, C. & Michel, F., 2007.** Searching for the relatives of *Coffea* (Rubiaceae, Ixoroideae): the circumscription and phylogeny of Coffeae based on plastid sequence data and morphology. *American Journal of Botany*. 94(3): 313–329.
- McDowell, T. & Bremer, B., 1998.** Phylogeny, diversity, and distribution in *Exostema* (Rubiaceae): implications of morphological and molecular analyses. *Plant Systematics and Evolution* 212: 215-246.
- Metcalf, C.R., & Chalk, 1950.** Anatomy of Dicotyledon (Leaves, stem, wood in relation to taxonomy with notes on economic uses). Vol I. *Clarendon Press Oxford*. 1500p.

- Mondolot, L., La Fisca, P., Buatois, B., Talansier, E., de Kochko, A. & Campa, C., 2006.** Evolution in caffeoylquinic acid content and histolocalization during *Coffea canephora* leaf development. *Annals of Botany* 98: 33–40.
- Morat, P. & Lowry, P. P., 1993.** Do we really know as much as we think about the flora of the Africa-Madagascar region? *Intl. Bot. Congr. Abstracts*. XV: 33.
- Nepokroeff, M., Bremer, B. & Systma, K., 1999.** Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and *rbcL* sequence data. *Systematic Botany*. 24: 5-27.
- ONE, 2006.** Profil environnemental: Région Vatovavy Fitovinany. 61p
- Ornano, M. d', Chassevent, F. & Pougneaud, S., 1967a.** Composition et caractéristiques chimiques de Caféiers sauvages de Madagascar. IV -Isolement et étude de la structure de la cafamarine, substance amère de *C. buxifolia*. In : 2è *Colloque de l'A.S.I.C.*, Trieste (Italie), 175-182.
- Ornano, M. d', Chassevent, F. & Pougneaud, S., 1967b.** Composition et caractéristiques chimiques de *Coffea* sauvages de Madagascar. II .Recherche de la caféine et d'autres méthylxanthines dans les feuilles et les graines de caféiers sauvages et cultivés. III Cafamarine et trigonelline contenues dans les graines de trois caféiers sauvages. In : 2è *Colloque de l'A.S.I.C.*, Trieste (Italie), 101-114.
- Persson, C., 2000.** Phylogeny of the Neotropical *Alibertia* group (Rubiaceae), with emphasis on the genus *Alibertia*, inferred from ITS and 5S ribosomal DNA sequences. *American Journal of Botany* 87: 1018-1028.
- Piesschaert, F., Andersson, L., Jansen, S., Dessein, S., Robbrecht, E. & Smets, E., 2000.** Searching for the taxonomic position of the African genus *Collettoecema* (Rubiaceae): morphology and anatomy compared to an rps16- intron analysis of Rubioideae. *Canadian Journal of Botany* 78: 288-304.
- Portères, R., 1962.** Sur quelques caféiers sauvages de Madagascar. *J.A.T.B.A.* tome IX. 36 : 200-210.
- Rakotomalala, J. J., R., 1993.** Diversité biochimique des caféiers : Analyse des acides hydroxycinnamiques, bases puriques et diterpènes glycosidiques. Particularités des caféiers sauvages de la région malgache (*Mascarocoffea* Chev.). Travaux et Documents Microfichés n°99. F3. ORSTOM. 216p. ISBN: 2-7099-1139-6.
- Rakotomalala, J. J., Emile, C., Michael, N., Clifford & Charrier, A., 1992.** Caffeine and theobromine in green beans from *Mascarocoffea*. *Phytochemistry*, Vol. 31. 4: 1271-1272.

- Rakotondravao, A., 2001.** Contribution à l'étude de l'activité biologique de quelques constituents chimiques spécifiques des graines de *Mascarocoffea* Chev. Mém DEA. Biotec. Microbio. Dép Bioch. Fond et Appl. Fac. Sciences. Univ. Antananarivo. 68p.
- Robbrecht, E., 1988.** Tropical woody Rubiaceae. Characteristic features in progressions. Contributions to a new subfamilial classification. Vol.1. *National Botanic Garden of Belgium*, Meise. 267p.
- Rova, J.H.E., Delprete, P.G., Anderson, L. & Albert, V.A., 2002.** A *trnL-F* CPDNA sequence study of Condamineeae – Rondeletieae - Sipaneeae complex with implications on the phylogeny of Rubiaceae. *American Journal of Botany*. 89: 145-159.
- Saint Martin, M., 1982.** Biosystématique des Papilionacées. Ontogénie, Phytodermologie, Séminologie. Doctorat es Sciences, Université Paul Sabatier, Toulouse, 306p.
- Sole, E., 2006.** Teneur en composés phénoliques et alcaloïdiques chez différentes espèces de caféiers. Stage M1. Université de Montpellier 1. Faculté de Pharmacie. 51p.
- Stoffelen, P., Davis A. P., Govaerts, R. & Bridson, D. M., 2006.** An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 152: 465-512.
- Struwe, L., 2002.** Gentianales (*Coffees, Dogbanes, Gentians and Milkweeds*). In: Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group/ www.els.net Encyclopedia of life.
- Vèsque, J., 1885.** Caractères des principales familles gamopétales. Tirés de l'anatomie de la feuille. *Annales des Sciences Naturelles. Botanique*. Ser. 7, 1: 183-360. 268p.
- Wagner, G., J., 1991.** Secreting Glandular Trichomes: More than Just Hairs. *Plant Physiol*. 96 : 675-679.
- Ward, J. H., 1963.** Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J. Am. Stat. Assoc.* 58: 236-244.
- Welkie, G., W., Caldwell, M. & Lyshede, L., 1989.** Anatomical adaptation of Algerian Sahara Chenopodiaceae to severe drought conditions. *Sécheresse*. ISSN 1147-7806, vol. 16, n°2: 121-124.
- http://www.kew.org/gis/projects/mad_veg/form.html**

ANNEXES

ANNEXE 1 : Classification en 5 séries botaniques des taxons étudiés avec leur distribution géographique et quelques caractères morphologiques et phénologiques.

Série botanique	Taxon, Numéro accession	Distribution géographique/ habitat	Caractéristiques		
			Hauteur et aspect général de la plante	Feuille (forme, apex, stipule, domatie)	Fruit (forme / couleur)
VERAE	<i>C. lancifolia</i> A 320	Est, forêt dense humide sempervirente, Tolongoina et Betampona	Moyenne/grande, avec cône allongé, buissonnant/pyramide	lancéolée, apex acuminé, stipules ovales, domaties arrondies extra-axillaires	Petits, oblong à ovoïde
	<i>C. kianjavatensis</i> A 602 / A 213	Est, forêt dense humide sempervirente Vatovavy-Andohahela	petite ou moyenne hauteur, buissonnante	Lancéolées/elliptiques, apex acuminé/ aigu, stipules triangulaires, trapézoïdes/ ovales, domaties ovales axillaires	
COMPLEXE MILLOTII	<i>C. dolichophylla</i> A 206	Forêt dense humide du Sud-est, alt. 100 - 200m Forêt dense humide, alt. 50- 400m et Forêt dense humide de l'Est (Maroantsetra jusqu'a Vatovavy), alt. 50- 500m Forêt littorale. Alt. 1-50m	moyenne, buissonnante/ horizontale	Elliptiques, apex aigu, stipules arrondies/ lancéolées acuminées ou elliptiques aiguées, domaties ovales et extra-axillaire ou axillaires et arrondies	Forme et taille de prunes, vert- jaune à jaune vif à maturité
	<i>C. farafanganensis</i> A 208				
	<i>C. millotii</i> A 219	Forêt dense humide de l'Est (Maroantsetra jusqu'a Vatovavy), alt. 50- 500m Forêt littorale.	petite, moyenne ou grande, avec un aspect pyramidal ou buissonnant	Elliptiques, apex aigu, stipules ovales ou arrondies, domaties ovales et axillaires	
	<i>Coffea</i> sp A 904	Nord Est	de grande taille pyramidale/ buissonnante	elliptiques, apex aigu stipules arrondies, domaties rondes et axillaires/ ovales et extra-axillaires	
	<i>Coffea sambavensis</i>				
GARCINOIDES	<i>C. dubardi</i> A 36	Forêt dense sèche du nord (Ankarana), alt. 100 - 200 m	petite hauteur, buissonnante	Elliptiques, apex apiculé, stipules trapézoïdes, domaties punctiforme en position axillaires	Oblongs à arrondis, violet noir à maturité
	<i>C. heimii</i> A 516	Forêt dense sur calcaire (montagne de Français) ou Forêt Dense sur sol sableux (Sahafary)	moyenne, buissonnante	Lancéolées, apex acuminé, stipules arrondies, domaties ovales et extra-axillaires	
SUBTERMINALES	<i>C. pervilleana</i> A 957	Forêt dense humide de Sambirano (Lokobe-Nosy Be et de Galoka) alt. 50 - 200m et de Forêt dense sèche sur Tsingy (Beanka et Ankarana)	buissonnante, de grande hauteur	Elliptiques, apex acuminé, stipules ovales, domaties ovales et axillaires	Ovoïdes à oblongs
	<i>C. sakarahae</i> A 304	Forêt subhumide du Sud-Ouest (Analavelona et Andohahela sur sol latéritique et Forêt subhumide Sud Ouest Zombitse avec ses environs sur sol sableux, Forêt galerie aux environs d'Ambalavao	petite hauteur, buissonnante	Elliptiques, apex aigu, stipules ovales, domaties rondes et axillaires	

Série botanique	Accession	Distribution géographique/ habitat	Caractéristiques		
			Hauteur et aspect général de la plante	Feuille (forme, apex, stipule, domatie)	Fruit (forme et couleur)
MULTIFLORAE	<i>C. ankaranensis</i> A525 et A808	Forêt dense sèche du Nord (Ankarana et Anivorano), alt. 100 - 200 m	taille moyenne en cône allongé	Elliptiques, apex aigu, stipules ovales, domaties ovales	Ovoïdes allongés, ou drupes ovoïdes, vert-jaune ou violacé à maturité
	<i>Coffea</i> sp A 315	Est	grande taille en cône allongé	Lancéolées, apex acuminé, stipules arrondies, domaties ovale et extra-axillaires.	
	<i>C. bertrandi</i> A 5	Forêt galerie du Sud (Andohahela), alt. 50 -100 m	buissonnante de taille moyenne	Elliptiques, apex aigu, stipules ovales, domaties ovales et extra-axillaires	
	<i>C. vianneyi</i> A 946 et A 20	Forêt dense humide du Sud-Est, alt. 400-600	grande taille, en pyramide	Elliptiques, apex aigu, stipules arrondies, domaties ovale et axillaires	
	<i>C. perrieri</i> A 305	Forêt galerie de l'Ouest allant de Befandriana Nord jusqu'a Andohahela	pyramidale de grande taille	Lancéolées, apex acuminé, stipules ovales, domaties punctiformes et axillaires	Ovoïdes allongés, ou drupes ovoïdes, violacée
	<i>C. perrieri</i> A 12		grande taille en pyramide ou en cône allongé	Lancéolées, apex acuminé ou aigu, stipules ovales ou deltoïdes, domaties ovale et axillaires ou arrondies et extra- axillaires	
	<i>C. mangoroensis.</i> A 18	Forêt dense humide de l'Est de Zahamena jusqu'a Moramanga, alt. 600 - 1000 m	moyenne en pyramide	Elliptiques, apex aigu, stipules arrondies, domaties rondes et extra-axillaires	Ovoïdes allongés, ou drupes ovoïdes
	<i>C. resinosa</i> A8, A816, A915	Forêt littorale de l'Est, alt. 1-50m	moyenne, cône allongé,	Elliptiques, apex obtus, stipules arrondies, domaties ovales et extra-axillaires	Couleur verte
	<i>C. andrambovatensis</i> A 227 et <i>Coffea</i> sp A 311	Forêt dense humide de l'Est de la région de Vatovavy, alt. 600-1000m.	grande taille en pyramide petite taille en pyramide	Elliptiques, apex aigu, stipules ovales, domaties arrondies et extra-axillaires	

ANNEXE 2 : Description des variables de la tige

COUPE TRANSVERSALE DE JEUNE TIGE (entre nœud n°2)					
Série botanique	Taxon	accession	Poils unicellulaires	Sclérenchyme périvasculaire	Fibres phloemienne
MULTIFLORAE	<i>C. mangorensis</i>	A 18	Absents (0)	Discontinu (D)	présentes (P)
	<i>C. bertrandi</i>	A 5	0	Continu (C)	P
	<i>C. vianneyi</i>	A 946	Présents (P)	C	Absentes (0)
		A 20	P	C	0
	<i>C. perrieri</i>	A 12	0	D	0
		A 305	0	D	0
		A 724	0	D	0
	<i>C. resinosa</i>	A 8	P	C	0
		A 816	P	C	0
		A 915	P	C	0
	<i>C. andrambovatensis</i>	A 227	0	D	P
	<i>Coffea</i> sp	A311	0	D	0
	<i>C. ankaranensis</i>	A 525	0	D	P
		A 808	0	D	P
		A 315	0	D	P
SUBTERMINALES	<i>C. sakarahae</i>	A 304	P	C	P
	<i>C. pervilleana</i>	A 957	P	D	0
VERAE	<i>C. kianjavatensis</i>	A 602	P	C	P
		A 213	P	C	P
	<i>C. lancifolia</i>	A 320	0	C	P
GARCINIOIDES	<i>C. dubardi</i>	A 36	P	C	P
	<i>C. heimii</i>	A 516	P	C	0

Série botanique	Taxon	accession	Poils unicellulaires	Sclérenchyme périvasculaire	Fibres phloemienne
COMPLEXE MILLOTII	<i>C. dolichophylla</i>	A 206	Absents (0)	Continu (C)	Présentes (P)
	<i>C. farafangensis</i>	A 208	Présents (P)	Discontinu (D)	P
	<i>C. millotii</i>	A 219	P	C	Absents (0)
	<i>C. richardii</i>	A 575	P	D	0
	<i>Coffea</i> sp	A 904	0	C	0
	<i>Coffea sambavensis</i>	A 955	0	D	P
EUCOFFEA	<i>C. canephora</i>		0	C	0

OBSERVATION	NOTES	CODE
Poils simples unicellulaires	présents	P (présents)
	absents	0 (absents)
Sclérenchyme périvasculaire	continu avec une à deux couches de cellules.	C (continu)
	discontinu en plusieurs lots de cellules	D (discontinu)
fibre phloemienne	avec une à deux couches de cellules lignifiées	P (présente)
	absente	0 (absente)

ANNEXE 3 : Description des variables de la feuille

COUPE TRANSVERSALE DE FEUILLE										
Série botanique	taxon	accession	Parenchyme palissadique (PP)	Epaisseur du PP x 3,12µm	Classe	Epaisseur de la feuille x 28,6 µm	classe	sclérites	stomate	Faisceaux dorsaux (FD)
MULTIFLORAE	<i>C. mangoroensis</i>	A 18	Bisérielé (B)	40	3	21	3	Présents (P)	Paracytique (P)	Présents (P)
	<i>C. bertrandi</i>	A 5	B	28	2	24	3	P	P	P
	<i>C.vianneyi</i>	A 946	Unisérielé (U)	35	2	15	1	P	P	P
		A 20	U	20	1	11	1	P	P	P
	<i>C.perrieri</i>	A 12	B	17,5	1	17	2	P	P	P
		A 305	B	30	2	17,5	2	P	P	P
		A 724	B	37,5	3	22,5	3	P	P	P
	<i>C.resinosa</i>	A 8	B	25	1	15	1	Absents (0)	P	P
		A 816	B	25	1	12	1	0	P	P
		A 915	B	25	1	20	2	0	P	P
	<i>C.andrombovatensis</i>	A 227	B	25	1	17	2	P	P	P
	<i>Coffea</i> sp	A311	B	25	1	16	2	P	A	P
	<i>C.ankaranensis</i>	A 525	B	25	1	18	2	P	P	P
		A 808	B	30	2	20	2	P	P	P
	<i>Coffea</i> sp	A 315	B	30	2	18	2	P	P	P

Série botanique	taxon	accession	Parenchyme palissadique (PP)	Epaisseur du PP x 3,12µm	Classe	Epaisseur de la feuille x 28,6 µm	classe	sclérites	stomate	Faisceaux dorsaux (FD)
SUBTERMINALES	<i>C .sakarahae</i>	A 304	Bisérié (B)	37,5	3	28	4	Présents (P)	Tetracytique (T)	Absents (0)
	<i>C .pervilleana</i>	A 957	Unisérié (U)	21	1	11,5	1	P	Paracytique (P)	Présents (P)
VERAE	<i>C .kianjavatensis</i>	A 602	U	18	1	11	1	Absents (0)	Anomocytique (A)	0
		A 213	U	27,5	2	13	1	0	A	P
	<i>C .lancifolia</i>	A 320	B	20	1	15	1	0	A	P
GARCINIOIDES	<i>C. dubardi</i>	A 36	B	24	1	16,5	2	P	P	P
	<i>C. heimii</i>	A 516	B	25	1	13	1	P	P	P
COMPLEXE MILLOTII	<i>C.dolichophylla</i>	A 206	U	18	1	24	3	P	A	P
	<i>C.farafangensis</i>	A 208	U	15	1	21,5	2	P	A	P
	<i>C .milotii</i>	A 219	U	18	1	17	2	P	A	P
	<i>C .richardii</i>	A 575	U	30	2	21,5	3	P	A	P
	<i>Coffea</i> sp	A 904	U	25	1	26	4	P	P	P
	<i>Coffea sambavensis</i>	A 955	B	20	1	22	3	P	A	P
EUCOFFEA	<i>C. canephora</i>		B	15	1	10	1	0	P	P

OBSERVATIONS	NOTES		CODE
Mésophylle		Unisériée: une seule assise de cellules parenchymateuses (cellules allongées, riches en chloroplastes)	U (Unisériée)
	Parenchyme Palissadique (PP)	Bisériée: avec deux assises de cellules parenchymateuses, la deuxième assise est continue ou discontinue, pauvre ou riche en chloroplastes avec des cellules plus ou moins arrondies ou rectangulaires peu allongées	B (Bisériée)
	Sclérites (ST)	type simple: cellules lignifiées et allongées avec paroi épaisse et lumière étroite	P (présents)
		absentes	0 (absents)
Stomate (SO)		paracytique: les cellules de gardes sont accompagnées par 2 ou plusieurs cellules accessoires localisées de chaque côté des cellules de gardes et parallèlement à leur grand axe.	P (paracytique)
		anomocytique: les cellules de gardes sont entourées par un nombre limité de cellules épidermiques qui ne se distinguent pas ni par la taille ni par la forme, il n'y a pas de cellules accessoires.	A (anomocytique)
		tetracytique: les cellules de gardes sont entourées par 4 cellules accessoires dont 2 en position latérales et 2 en position terminale.	T (tetracytique)
crypte pilifère (CP)		cavité formée par enfoncement de l'épiderme et garnies de poils	P (présent)
		absentes	0 (absent)
Faisceau vasculaire (FV)		faisceaux dorsaux présents	P (présent)
		faisceaux dorsaux absents	0 (absent)
Epaisseur (µm) parenchyme palissadique par classe de série (EPP)		[15-25 [	1
		[26-35[	2
		35 <	3
Epaisseur (µm) de la feuille au niveau du mésophylle (EF)		[10-15[	1
		[16-20[	2
		[21-25[	3
		26<	4

ANNEXE 4 : Description des variables du pétiole

COUPE TRANSVERSALE DU PETIOLE

(forme de la vascularisation principale dans la partie proximale et distale du pétiole)

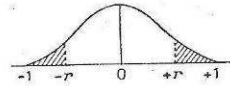
Série botanique	taxon	accession	Partie proximale (PP)	Partie Distale (PD)	Faisceaux dorsaux (FD)	Scélérénchyme dans la partie distale (PDS)
MULTIFLORAE	<i>C. mangoroensis</i>	A 18	arc ouvert (AO)	stèle fermée (AF)	Présents (P)	Absent (0)
	<i>C. bertrandii</i>	A 5	AO	AF	P	Continu (C)
	<i>C.vianneyi</i>	A 946	AO	AF	P	0
		A 20	AF	AF	P	0
	<i>C.perrieri</i>	A 12	AF	AF	P	Discontinu (D)
		A 305	AO	AF	P	0
		A 724	AF	AF	P	0
	<i>C.resinosa</i>	A 8	AF	CF	P	C
		A 816	AF	CF	P	C
		A 915	AF	CF	P	0
	<i>C.andrambovatensis</i>	A 227	AF	AF	P	0
	<i>Coffea</i> sp	A 311	AO	AF	P	0
	<i>Coffea ankaranensis</i>	A 525	AO	AF	P	0
		A 808	AO	AF	P	0
	<i>Coffea</i> sp	A 315	AO	AF	P	D
SUBTERMINALES	<i>C.sakarahae</i>	A 304	AO	AF	0	D
	<i>C.pervilleana</i>	A 957	AO	AF	0	0
VERAE	<i>C.kianjavatensis</i>	A 602	AF	AF	P	C
		A 213	AF	AF	P	C
	<i>C.lancifolia</i>	A 320	AO	AF	P	0
			Partie	Partie	Faisceaux	Scélérénchyme

Série botanique	taxon	accession	proximale (PP)	Distale (PD)	dorsaux (FD)	dans la partie distale (PDS)
GARCINIOIDES	<i>C.dubardii</i>	A 36	arc ouvert (AO)	stèle fermée (AF)	Présents (P)	Discontinu (D)
	<i>C.heimii</i>	A 516	AO	AF	P	D
COMPLEXE MILLOTII EUCOFFEA	<i>C.dolichophylla</i>	A 206	AO	AF	0	Absent (0)
	<i>C.farafangensis</i>	A 208	AF	AF	P	Continu (C)
	<i>C.millotii</i>	A 219	(arc aux extrémités incurvées) U	U	0	0
	<i>C.richardii</i>	A 575	AF	CF	P	C
	<i>Coffea</i> sp	A 904	AF	AF	P	C
	<i>Coffea sambavensis</i>	A 955	AO	AF	P	D
	<i>C. canephora</i>		AO	AF	P	0

OBSERVATION	NOTE	CODE
Forme de la vascularisation dans la partie proximale	arc ouvert	AO (arc ouvert)
	stèle fermée	AF (stèle fermée)
	en arc aux extrémités incurvées	U (arc aux extrémités incurvées)
Forme de la vascularisation dans la partie distale	stèle fermée	AF
	fermé triangulaire	CF (fermé triangulaire)
	en arc aux extrémités incurvées	U
Faisceaux dorsaux dans la partie proximale et distale	présents	P (présents)
	absents	0 (absents)
Sclérenchyme dans la partie distale	continu	C (continu)
	discontinu	D (discontinu)
	absent	0 (absent)

Annexe 5 : Table de coefficient de corrélation

La table indique la probabilité α pour que le coefficient de corrélation égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée r , c'est-à-dire la probabilité extérieure à l'intervalle $(-r, +r)$, en fonction du nombre de degrés de liberté (d.d.l.).



d.d.l. \ α	0,10	0,05	0,02	0,01
1	0,9877	0,9969	0,9995	0,9999
2	0,9000	0,9500	0,9800	0,9900
3	0,8054	0,8783	0,9343	0,9587
4	0,7293	0,8114	0,8822	0,9172
5	0,6694	0,7545	0,8329	0,8745
6	0,6215	0,7067	0,7887	0,8343
7	0,5822	0,6664	0,7498	0,7977
8	0,5494	0,6319	0,7155	0,7646
9	0,5214	0,6021	0,6851	0,7348
10	0,4973	0,5760	0,6581	0,7079
11	0,4762	0,5529	0,6339	0,6835
12	0,4575	0,5324	0,6120	0,6614
13	0,4409	0,5139	0,5923	0,6411
14	0,4259	0,4973	0,5742	0,6226
15	0,4124	0,4821	0,5577	0,6055
16	0,4000	0,4683	0,5425	0,5897
17	0,3887	0,4555	0,5285	0,5751
18	0,3783	0,4438	0,5155	0,5614
19	0,3687	0,4329	0,5034	0,5487
20	0,3598	0,4227	0,4921	0,5368
25	0,3233	0,3809	0,4451	0,4869
30	0,2960	0,3494	0,4093	0,4487
35	0,2746	0,3246	0,3810	0,4182
40	0,2573	0,3044	0,3578	0,3932
45	0,2428	0,2875	0,3384	0,3721
50	0,2306	0,2732	0,3218	0,3541
60	0,2108	0,2500	0,2948	0,3248
70	0,1954	0,2319	0,2737	0,3017
80	0,1829	0,2172	0,2565	0,2830
90	0,1726	0,2050	0,2422	0,2673
100	0,1638	0,1946	0,2301	0,2540

Exemple : avec d.d.l. = 30, pour $r = 0,3494$ la probabilité est $\alpha = 0,05$.

(*) D'après Fisher et Yates, Statistical tables for biological, agricultural and medical research (Oliver and Boyd, Edinburgh), avec l'aimable autorisation des auteurs et des éditeurs.

Annexe 6 : Modèle mathématique pour la décomposition de la variance (cas d'un modèle complètement hiérarchisé mixte) et le calcul du coefficient de corrélation (r)

C (génotypes) est hiérarchisé à B (espèces) et B est hiérarchisé à A (séries) ;

Les génotypes (C) et les espèces (B) sont tirés au hasard (aléatoire) et les séries A sont choisies arbitrairement (fixe). D'où le modèle de décomposition de l'analyse de variance :

$$SCE_{\text{totale}} = SCE_A + SCE_{B/A} + SCE_{C/B} + SCE_{\text{res}}$$

Les degrés de liberté sont respectivement:

$$npqr - 1, p - 1, p(q - 1), pq(r - 1) \text{ et } pqr(n - 1)$$

Ce qui permet de calculer les carrés moyens observés :

$$CM_A = SCE_A / (p-1)$$

$$CM_{B/A} = SCE_{B/A} / p(q-1)$$

$$CM_{C/B} = SCE_{C/B} / pq(r-1)$$

$$CM_{\text{res}} = SCE_r / pqr(n-1)$$

On en déduit les tests suivants pour chaque hypothèse nulle

$$H0_1 : CM_A / CM_{B \setminus A}$$

$$H0_2 : CM_{B \setminus A} / CM_{C \setminus B}$$

$$H0_3 : CM_{C \setminus B} / CM_r$$

Pour chaque test, le F observé est comparé au F théorique (table de Snedecor) dont les degrés de liberté sont définis par le numérateur et le dénominateur. L'hypothèse nulle est rejetée quand F_{obs} est supérieur au $F_{théo}$.

Les espérances mathématiques des carrés moyens du modèle sont

$$E(CM_A) = \sigma^2 + n\sigma_C^2 + nr\sigma_B^2 + nq \sum a_i^2 (p-1)$$

$$E(CM_{B \setminus A}) = \sigma^2 + n\sigma_C^2 + nr\sigma_B^2$$

$$E(CM_{C \setminus B}) = \sigma^2 + n\sigma_C^2$$

$$E(CM_{res}) = \sigma^2$$

Avec n : nb de mesures par génotype, r : nb de génotypes par espèce, q : nb d'espèces par série, p : nb de séries.

Quand l'hypothèse nulle est rejetée, on en déduit les variances factorielles σ_C^2 et σ_B^2 , ce qui permet par la suite de calculer les coefficients de corrélation intra-classes de Snedecor (R) qui sont les contributions relatives de chaque variance factorielle par rapport à la variance totale observée.

$$R_{\text{espèce}} = \sigma_B^2 / (\sigma_B^2 + \sigma_C^2 + \sigma_{res}^2);$$

$$R_{\text{génotype}} = \sigma_C^2 / (\sigma_B^2 + \sigma_C^2 + \sigma_{res}^2)$$

Pour le facteur fixe « série », quand l'hypothèse nulle $H0_1$ est rejetée, on applique la comparaison multiple des moyennes selon Newman et Keuls.

Calcul du coefficient de corrélation « r » pour le test d'indépendance entre la densité des stomates et la taille des feuilles des populations

$$r = \frac{\sum [(x-m_x) \times (y-m_y)]}{\sqrt{\sum (x-m_x)^2 \times \sum (y-m_y)^2}}$$

Avec: x : variable densité des stomates

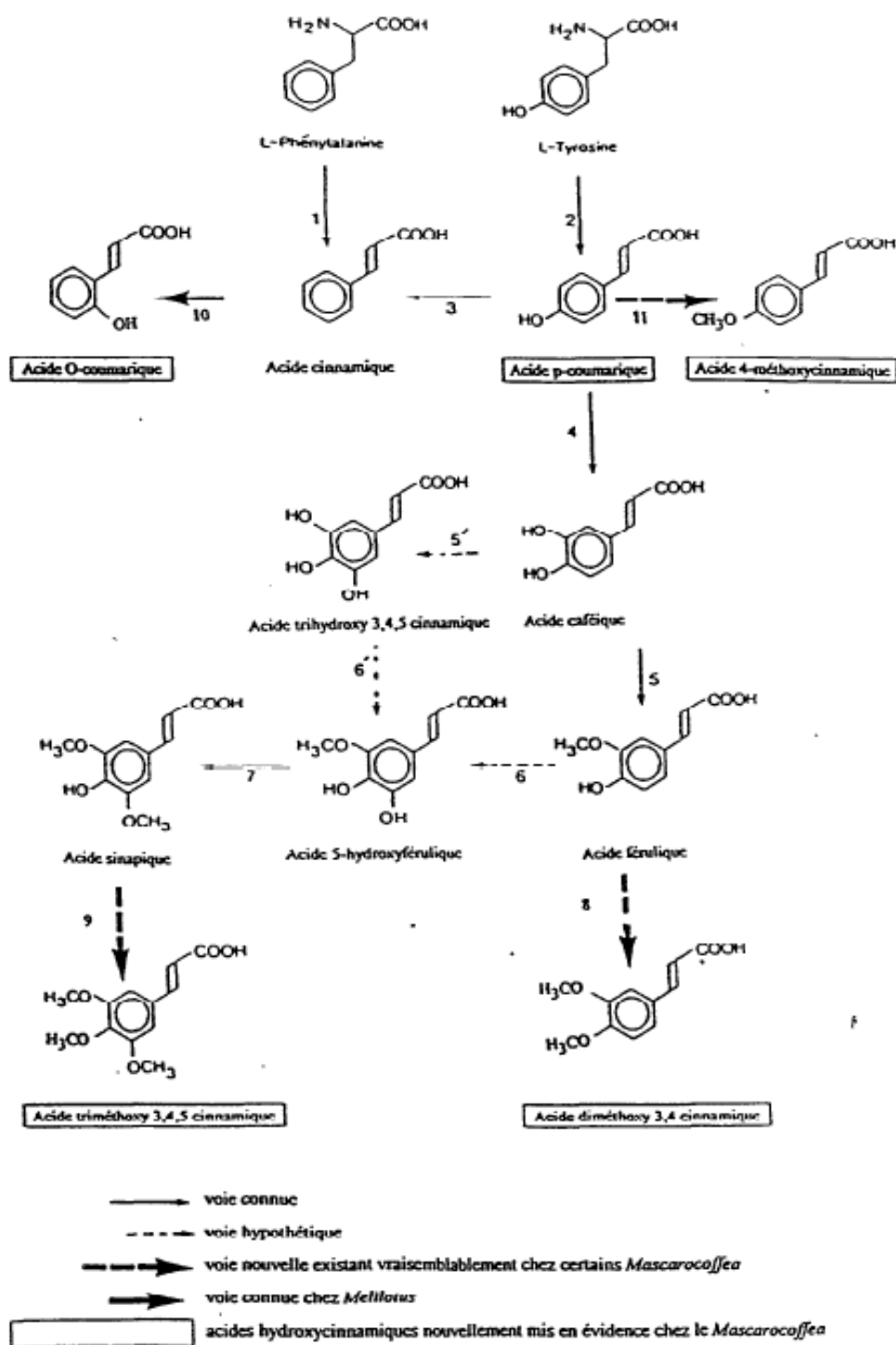
m_x : moyennes observées des densités des stomates

y : variable taille des feuilles

m_y : moyennes observées des tailles des feuilles

ddl = degré de liberté = n – 2 où n est le nombre de populations étudiées (n=15)

Annexe 7 : Schéma de la biosynthèse des acides hydroxycinnamiques (Gross, 1981 ; modifié par Rakotomalala, 1993)



Enzymes intervenant : (1) phénylalanine ammonia-lyase; (2) tyrosine ammonia-lyase; (3) cinnamate 4-hydroxylase; (4) *p*-coumarate 3-hydroxylase; (5 et 7) catéchol *O*-méthyltransférase; (6) férulate 5-hydroxylase; (8,9,11) catéchol *O*-méthyltransférase para-spécifique; (10) cinnamate 2-hydroxylase.

Annexe 8 : Liste des caractères observés

- **TIGE**

9 caractères examinés dont 3 caractères polymorphes :

Poils unicellulaires, sclérenchyme continu et fibre phloemienne ;

et 6 caractères monomorphes :

Epiderme, cuticule, collenchyme, parenchyme cortical, faisceaux libéro-ligneux et parenchyme médullaire.

- **FEUILLE**

12 caractères examinés dont 3 caractères polymorphes :

Parenchyme palissadique, sclérites et stomate ;

et 9 caractères monomorphes :

Épiderme, cuticule, collenchyme, parenchyme lacuneux, sclérenchyme, faisceau libéro-ligneux, crypte pilifère, épaisseur du parenchyme palissadique, épaisseur de la feuille au niveau du mésophylle

- **PETIOLE**

4 caractères examinés dont 3 caractères polymorphes :

Forme de la vascularisation principale, sclérenchyme périvasculaire, faisceaux libéro-ligneux dorsaux ;

et un caractère monomorphe :

Faisceaux libéro-ligneux latéraux.

Titre : « Anatomie des appareils végétatifs de 18 espèces de caféiers sauvages endémiques de Madagascar »

Auteur : RANAIVOARIMANANA Mamisoa Esther

RESUME

Bien que la section *Mascarocoffea* ait été créée par Chevalier en 1938, l'étude anatomique n'a été faite que sur quelques caféiers sauvages connus à son époque et originaires des îles Mascareignes. Le nombre restreint d'espèces étudiées de la section *Mascarocoffea* nous a conduit à l'analyse d'autres caféiers sauvages originaires de Madagascar. Dix-huit espèces sur les 57 actuellement décrites de *Mascarocoffea* ont fait l'objet de ce mémoire. Il en ressort que chez les *Mascarocoffea* la diversité des structures anatomiques observées est aussi importante que celle rapportée par d'autres auteurs pour les caractères morphologiques et biochimiques. Bien que les résultats des analyses ne concordent pas toujours avec les subdivisions taxonomiques établies par les botanistes, d'autres éléments importants relatifs à l'adaptation et à l'histoire évolutive de ces caféiers émergent de cette étude, pour ne citer que le rôle joué par les caractères stomatiques.

Il est néanmoins indispensable d'élargir les recherches anatomiques sur d'autres organes (racine, fruits, bois) et sur d'autres espèces malgaches et africains afin de bien asseoir les hypothèses émises.

Mots clés : *Coffea*, Anatomie, *Mascarocoffea*, Kianjavato, Madagascar, Adaptation, Evolution.

Encadreurs : Professeur RAKOUTH Bakolimalala

Docteur RAKOTOMALALA Jean Jacques

Title: “Vegetative anatomy of 18 species of wild Malagasy Coffee trees.”

Author: RANAIVOARIMANANA Mamisoa Esther

ABSTRACT

Though the *Mascarocoffea* section was created by Chevalier in 1938, anatomical studies were only undertaken on few wild coffee trees from the Mascareigne islands. The few number of species studied of *Mascarocoffea* section lead us to analyse other wild coffee trees native to Madagascar. Anatomical studies of 18 species among the 57 described of wild Malagasy coffee trees were undertaken in this research. The diversity of anatomical structures within *Mascarocoffea* section is as important as morphological and biochemical diversity reported by other authors. Although the anatomical results do not always correlate with taxonomical groups proposed by former botanists, many important results in relation with the adaptation and the historical evolution of these wild coffee trees were revealed in this study, such as the role of anatomical stomata traits.

Nevertheless, anatomical investigations should be carried out on other organs (such as woods, roots and fruits) of other Malagasy and African species in order to confirm the expressed hypothesis.

Key words: *Coffea*, Anatomy, *Mascarocoffea*, Kianjavato, Madagascar, Adaptation, Evolution.

Encadreurs : Professeur RAKOUTH Bakolimalala

Docteur RAKOTOMALALA Jean Jacques