

Le caféier, *Coffea canephora*

Stéphane Dussert, Philippe Lashermes,
François Anthony, Christophe Montagnon,
Pierre Trouslot, Marie-Christine Combes,
Julien Berthaud, Michel Noirot, Serge Hamon

Fonds Documentaire IRD
Cote : BX25881 Ex: 1

Le café est le premier produit agricole d'exportation (CHARRIER et ESKES, 1997). Il est produit par deux espèces : *Coffea arabica* L. et *C. canephora* Pierre. *C. arabica* est connu pour ses qualités gustatives. Sa culture s'étend sur les hauts plateaux tropicaux humides, en Amérique latine et en Afrique de l'Est, essentiellement. *C. canephora* est renommé pour sa robustesse agronomique, d'où son nom commun de Robusta. Il est cultivé principalement dans les zones tropicales humides de basse altitude et représente 30 % de la production mondiale de café. Il provient surtout du Brésil, d'Indonésie et de Côte d'Ivoire. Sa production en Asie du Sud-Est — Philippines et Vietnam — et en Inde est en expansion.

Au cours des XVIII^e et XIX^e siècles, seul le café Arabica a été produit et ce, principalement en Amérique tropicale, dans la Caraïbe et en Asie (CHARRIER et ESKES, 1997). Cependant, cette espèce est apparue très sensible aux aléas parasitaires, notamment à la rouille orangée. C'est pourquoi, en Afrique, au cours du XIX^e siècle, les formes spontanées d'autres espèces de caféiers, notamment *C. canephora*, ont été mises en culture localement. Pour *C. canephora*, c'est surtout au Congo belge (actuellement, la République démocratique du Congo) et en Ouganda que des caféiers issus de populations sylvestres locales, de type Robusta, ont été cultivés. Ils ont été transférés à Java, principal centre de sélection de *C. canephora* de 1900 à 1930 (MONTAGNON et al., 1998). A la même époque, en Afrique, l'utilisation des formes spontanées locales a permis





d'élargir l'éventail du matériel mis en culture : Kouilou en Côte d'Ivoire, Niaouli au Togo et au Bénin, Nana en République centrafricaine. Le matériel sélectionné à Java a été réintroduit au Congo belge vers 1916 à l'INEAC (Institut national pour l'étude agronomique du Congo belge), qui est devenu le principal centre de sélection de *C. canephora* de 1930 à 1960 (MONTAGNON et al., 1998). Cependant, si les performances globales des arbres cultivés ont sensiblement augmenté à travers ces quelques cycles de sélection à Java et au Congo belge, les cultivars n'en sont pas moins restés très proches génétiquement des individus des populations naturelles d'origine. Par ailleurs, dans les pays africains de l'aire d'origine de l'espèce où *C. canephora* est cultivé, des formes spontanées locales ont pu se croiser avec les formes introduites et des plantes cultivées ont pu retourner vers des formes sauvages.

La botanique et les ressources génétiques

La botanique et le mode de reproduction

C. canephora appartient à la famille des rubiacées, genre *Coffea* L., sous-genre *Coffea* Bridson. Le genre *Coffea* a une aire de répartition limitée au continent africain, à Madagascar et aux îles Mascareignes. Il contiendrait près de 80 espèces, dont 25 seraient endémiques d'Afrique (BRIDSON et VERDCOURT, 1988). Les espèces du genre *Coffea* les plus proches génétiquement de *C. canephora* sont *C. congensis* et *C. brevipes* (LASHERMES et al., 1997). De plus, *C. canephora* ou une forme ancestrale de *C. canephora* est l'une des deux espèces diploïdes parentales de *C. arabica* (LASHERMES et al., 1997). Toutes les espèces du genre *Coffea* sont diploïdes à l'exception de *C. arabica*, qui est allotétraploïde. De même, elles possèdent toutes un mode de reproduction strictement allogame à l'exception de *C. arabica*, seule espèce autogame. Les études menées sur *C. canephora* ont mis en évidence un système d'auto-incompatibilité gamétophytique (BERTHAUD, 1980).

Pour les espèces diploïdes du genre *Coffea*, la quantité d'ADN par génome diploïde, mesurée par cytométrie en flux, varie de 0,95 à 1,78 picogramme (CROS et al., 1995). Elle est de 1,54 picogramme pour *C. canephora* et de 2,61 picogrammes pour *C. arabica*.

C. canephora possède l'une des aires de répartition les plus larges du sous-genre *Coffea* : elle s'étend, d'ouest en est, de la Guinée au Soudan et, du nord au sud, du Cameroun à l'Angola (BERTHAUD, 1986).

La croissance des cafiers de cette espèce est dimorphe. Les tiges principales (axes orthotropes) ont une croissance verticale et les branches (axes plagiotropes), une croissance horizontale. Le bouturage horticole est relativement

aisé. L'espèce peut fleurir une ou plusieurs fois par an, après une pluie d'au moins 10 millimètres qui suit une période de stress hydrique. La maturation des baies dure de huit à douze mois selon la variété et l'environnement.

Les graines de *C. canephora* n'ont pas un comportement orthodoxe (ROBERTS, 1973) lorsqu'elles sont déshydratées ou stockées à basse température (COUTURON, 1980). Leur longévité n'est que de un à deux ans à l'état hydraté et à température ambiante.

Les ressources génétiques

Etant donné le comportement des graines de *C. canephora*, la conservation à long terme des ressources génétiques de cette espèce s'effectue en champs.

Des collections plus ou moins représentatives des introductions les plus répandues, du matériel prélevé en plantations et des formes locales sont conservées en Côte d'Ivoire, au Cameroun, en Ouganda, en Inde, en Indonésie et au Brésil. Mais l'unique collection de référence pour les formes sauvages de *C. canephora* est celle de Divo, en Côte d'Ivoire. Elle contient plus de 700 génotypes sauvages collectés par l'Orstom (Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération) en collaboration avec le Cirad, l'IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources), la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) et le MNHN (Muséum national d'histoire naturelle) entre 1975 et 1987, dans cinq pays africains : la Côte d'Ivoire et la Guinée, en Afrique de l'Ouest ; le Cameroun, le Congo et la République centrafricaine, en Afrique centrale. La gestion de cette collection repose sur la duplication clonale en champs de chaque génotype. Le remplacement d'un arbre mort est réalisé par bouturage horticole à partir de l'autre représentant du même génotype. Parallèlement, le Cirad a constitué une importante collection de matériel cultivé, également conservée sur la station expérimentale de Divo. Cette collection de travail contient plus de 600 accès-sions d'origines diverses : variétés et populations locales, prélevements dans des plantations villageoises, matériel sélectionné.

La structure de la diversité génétique

La variabilité isoenzymatique

La première analyse de la diversité génétique de l'espèce *C. canephora* à partir du polymorphisme enzymatique a été réalisée par BERTHAUD (1986). Quinze échantillons ont été classés à l'aide des distances génétiques calculées à partir des fréquences alléliques de chaque échantillon. Douze des quinze

échantillons correspondaient à des populations sylvestres : neuf populations prospectées en Côte d'Ivoire et trois en République centrafricaine. Pour les trois autres échantillons, il a été nécessaire de regrouper des individus de populations ou d'origines différentes. C'est ainsi qu'un des trois échantillons était constitué par l'ensemble du matériel prospecté au Cameroun, qu'un autre regroupait tous les génotypes cultivés de la collection de travail du Cirad impliqués dans les essais agronomiques et que le dernier rassemblait des cafiers cultivés de type Ebobo, qui seraient originaires de Côte d'Ivoire (il n'existe plus de représentants du type Ebobo aujourd'hui en collection). Cette étude a mis en évidence, pour la première fois, une structuration génétique dans l'espèce *C. canephora*. Deux groupes ont été identifiés : le groupe Guinéen, composé de populations sauvages de Côte d'Ivoire, et le groupe Congolais, qui comprend le matériel sauvage de République centrafricaine et du Cameroun et le matériel cultivé. Par la suite, en augmentant le nombre de génotypes analysés et en classant la collection de matériel cultivé en 11 échantillons, MONTAGNON *et al.* (1992) ont identifié deux sous-groupes au sein du groupe Congolais : SG1 et SG2.

Dans notre étude, nous avons tenu compte des individus — 60 sauvages et 50 cultivés — et non pas des « populations » (tableaux 1 et 2). Au total, 29 allèles ont été détectés pour les 8 locus polymorphes, avec de 2 à 6 allèles par locus et un nombre moyen d'allèles par locus de 3,6. Il n'y a pas de différence significative entre les individus sauvages et les individus cultivés pour le nombre moyen d'allèles par locus.

La classification des 60 génotypes sauvages indique une structuration en deux groupes (figure 1a). Le groupe 1 ne contient que des individus collectés en Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire et Guinée). Le groupe 2 renferme tous les individus originaires d'Afrique centrale (Cameroun, Congo et République centrafricaine) et deux génotypes provenant de Côte d'Ivoire. Ces deux groupes correspondent, par leur composition, aux groupes Guinéen et Congolais de Berthaud (1986).

Tableau 1. Origine du matériel sauvage étudié : pays, année de collecte, nombre de populations sylvestres échantillonnées et nombre de génotypes analysés.

Pays	Année de prospection	Nombre de populations	Nombre de génotypes	Référence
Cameroun	1983	10	15	ANTHONY <i>et al.</i> (1985)
Congo	1985	7	13	DE NAMUR <i>et al.</i> (1988)
Côte d'Ivoire	1975-1986	21	36	BERTHAUD (1983) ; LE PIERRES <i>et al.</i> (1989)
Guinée	1987	1	2	LE PIERRES <i>et al.</i> (1989)
République centrafricaine	1975	6	11	BERTHAUD et GUILLAUMET (1978)
Total		45	77	

Le cafier

Tableau 2. Origine du matériel cultivé étudié : type d'introduction, dénomination en collection, institut donateur ou référence de la collecte, pays (d'origine pour les donations, de culture pour les prélevements en plantations) et nombre de génotypes analysés (N).

Type d'introduction	Dénomination	Donateur ou collecteur	Pays	N
Donation	Aboisso	Aboisso ¹ , Côte d'Ivoire	Gabon	6
	Niaouli	Bingerville ² , Côte d'Ivoire	Togo	3
	Kouilou de Madagascar	Bingerville ³ , Côte d'Ivoire	Gabon	4
	C10 Man	—	Rép. du Congo	2
	INEAC	INEAC ⁴ , Rép. du Congo	Rép. du Congo	12
	Côte d'Ivoire	BERTHAUD (1983)	Côte d'Ivoire	7
	Guinée	LE PIERRES et al. (1989)	Guinée	9
	Togo	LE PIERRES et al. (1989)	Togo	2
	Hybrides	—	Côte d'Ivoire	6
	Robusta A1	Inconnu	Inconnu	4
Total				55

1 Introduction à Aboisso (Côte d'Ivoire), par Beynis en 1910, de matériel cultivé au Gabon (CORDIER, 1961).

2 Introduction au Jardin d'essais de Bingerville (Côte d'Ivoire), en 1914, de matériel cultivé au Togo (CORDIER, 1961).

3 Introduction à Bingerville (Côte d'Ivoire), en 1951, de matériel sélectionné à Madagascar et originaire du Gabon (CORDIER, 1961).

4 Introduction en Côte d'Ivoire, en 1935, de matériel sélectionné à l'INEAC au Congo belge (CORDIER, 1961).

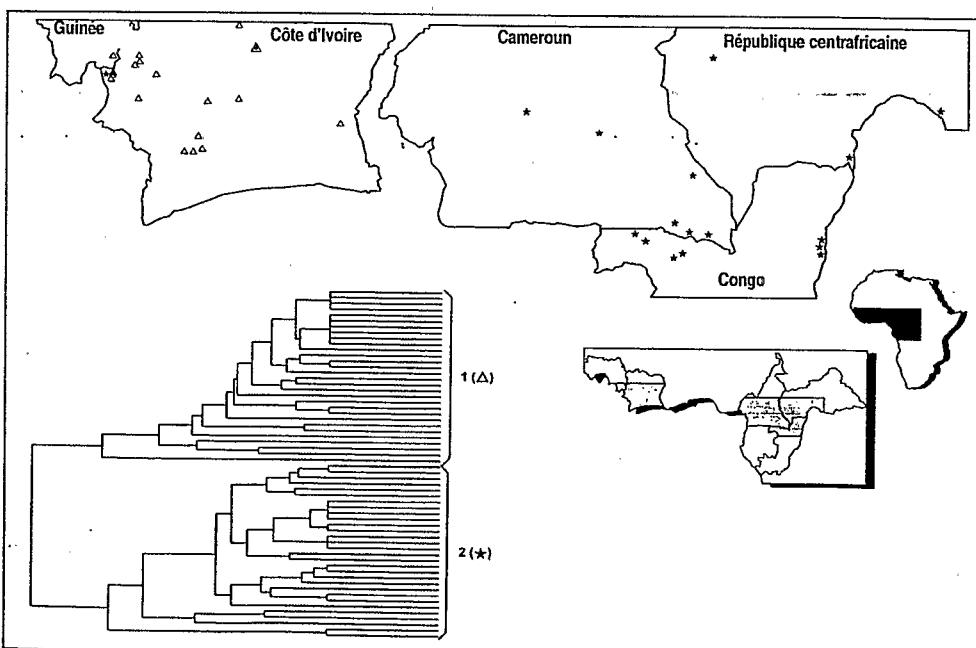


Figure 1a. Classification de 60 génotypes sauvages suivant l'indice de similarité de Dice et la méthode d'agrégation UPGMA à partir des données observées pour 29 marqueurs isoenzymatiques.

Diversité génétique des plantes tropicales cultivées

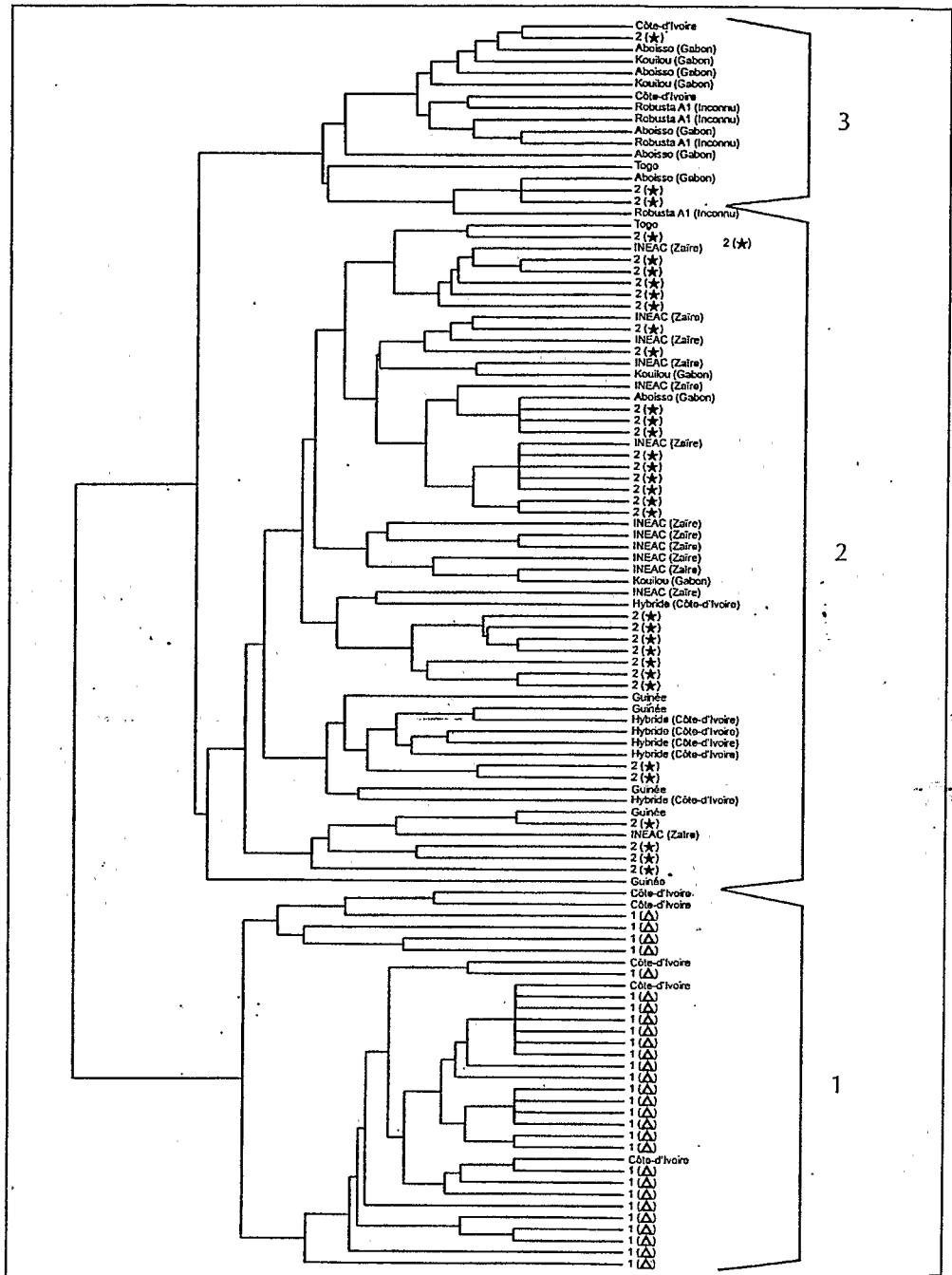


Figure 1b. Classification de 110 génotypes sauvages et cultivés suivant l'indice de similarité de Dice et la méthode d'agrégation UPGMA à partir des données observées pour 29 marqueurs isoenzymatiques.

Le dendrogramme obtenu avec l'ensemble des génotypes étudiés, sauvages et cultivés, présente une structure en trois groupes (figure 1b). Aucune séparation entre formes sauvages et formes cultivées n'apparaît. Le groupe le plus distant des deux autres (groupe 1) contient tous les individus du groupe sauvage 1 (Afrique de l'Ouest) et des génotypes prélevés dans des plantations en Côte d'Ivoire. Le deuxième groupe (groupe 2) comprend les génotypes du groupe sauvage 2 (à l'exception de trois génotypes), tout le matériel cultivé originaire de la République du Congo, les individus du groupe « hybrides » et ceux qui ont été prélevés dans des plantations en Guinée. Le matériel cultivé originaire du Gabon (sauf trois génotypes), les individus du groupe Robusta A1, deux génotypes prélevés dans des plantations en Côte d'Ivoire, un génotype prélevé au Togo et trois individus du groupe sauvage 2 forment le troisième groupe (groupe 3). Au regard de l'origine du matériel qui les compose, notre groupe 2 correspond au sous-groupe SG2 et notre groupe 3, au sous-groupe SG1 de MONTAGNON *et al.* (1992).

La variabilité moléculaire

L'utilisation des marqueurs moléculaires pour l'étude de la diversité génétique du genre *Coffea* est récente. Les premiers travaux ont porté sur l'analyse de la diversité de *C. arabica* à l'aide de marqueurs RAPD (LASHERMES *et al.*, 1996). Les résultats que nous présentons constituent les premières données sur la variabilité moléculaire de *C. canephora*.

Sur 26 sondes homologues testées, 10 se sont révélées monolocus et polymorphes. Elles ont permis de révéler de 2 à 14 allèles par locus soit 66 allèles au total et un nombre moyen d'allèles par locus polymorphe de 6,6. Le nombre total d'allèles observés pour les génotypes sauvages (62) est significativement supérieur ($\chi^2 = 4,55$; $P = 0,0329$) à celui des génotypes cultivés (54).

Le dendrogramme obtenu à partir des données moléculaires met en évidence une structuration du matériel sauvage en cinq groupes (figure 2a). Les génotypes d'une population du nord-ouest du Congo et d'une population du sud-est du Cameroun constituent le groupe A. Le groupe B comprend tous les génotypes collectés le long de la frontière sud de la République centrafricaine. Les individus du groupe C sont répartis dans les trois pays d'Afrique centrale : nord-ouest du Congo, sud-est du Cameroun et sud-ouest de la République centrafricaine. Le groupe D est constitué par tous les génotypes collectés en Guinée et en Côte d'Ivoire, à l'exception de quatre individus de l'ouest de la Côte d'Ivoire. Le groupe E contient les génotypes collectés dans le nord-est du Congo, ceux qui appartiennent à des populations du nord-ouest du Congo et du sud du Cameroun et des individus provenant de trois populations de l'ouest de la Côte d'Ivoire.

Une analyse globale du dendrogramme indique que le matériel sauvage originaire d'Afrique de l'Ouest est rassemblé dans un seul groupe, alors que le matériel collecté en Afrique centrale se structure en quatre groupes. Le groupe E est le plus distant des quatre autres groupes. Le groupe d'Afrique centrale (groupe C) le plus proche de celui d'Afrique de l'Ouest (groupe D) possède la répartition géographique la plus large.

Lorsque le matériel cultivé est pris en compte dans l'analyse, la structure de l'espèce en cinq groupes est conservée (figure 2b). De même, la position des groupes les uns par rapport aux autres demeure inchangée. Pour chacun des groupes, la composition en matériel sauvage reste identique à celle qui a été définie précédemment. Cependant, aucun matériel cultivé n'est présent dans les groupes sauvages B et C. Les individus provenant de la République du Congo, à l'exception d'un individu, s'insèrent dans le groupe E, auquel se rattachent également des individus collectés dans des plantations de Guinée et un hybride prélevé dans des plantations de Côte d'Ivoire. Aux individus sauvages du groupe A s'ajoutent la plupart des génotypes cultivés originaires du Gabon, ceux du Togo (prélèvements dans des plantations et groupe Niaouli) et les individus du groupe Robusta A1. Enfin, la quasi-totalité des individus hybrides, les génotypes prélevés dans des plantations de Côte d'Ivoire et la plupart des génotypes provenant des plantations de Guinée sont inclus dans le groupe D.

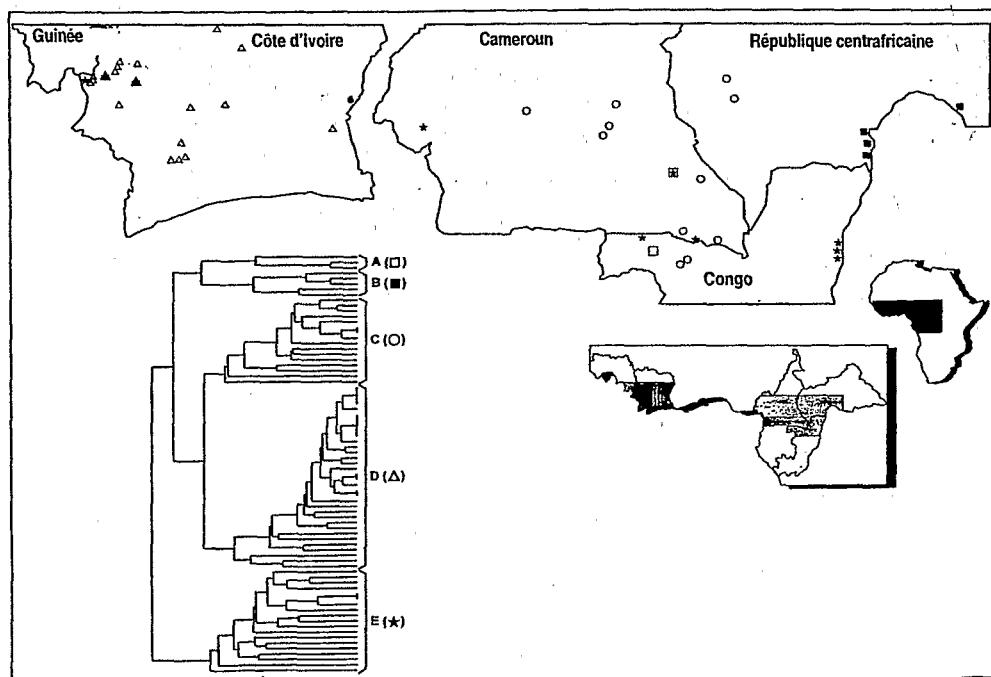


Figure 2a. Classification de 77 génotypes sauvages suivant l'indice de similarité de Dice et la méthode d'agrégation UPGMA à partir des données observées pour 66 marqueurs RFLP.

Le caféier

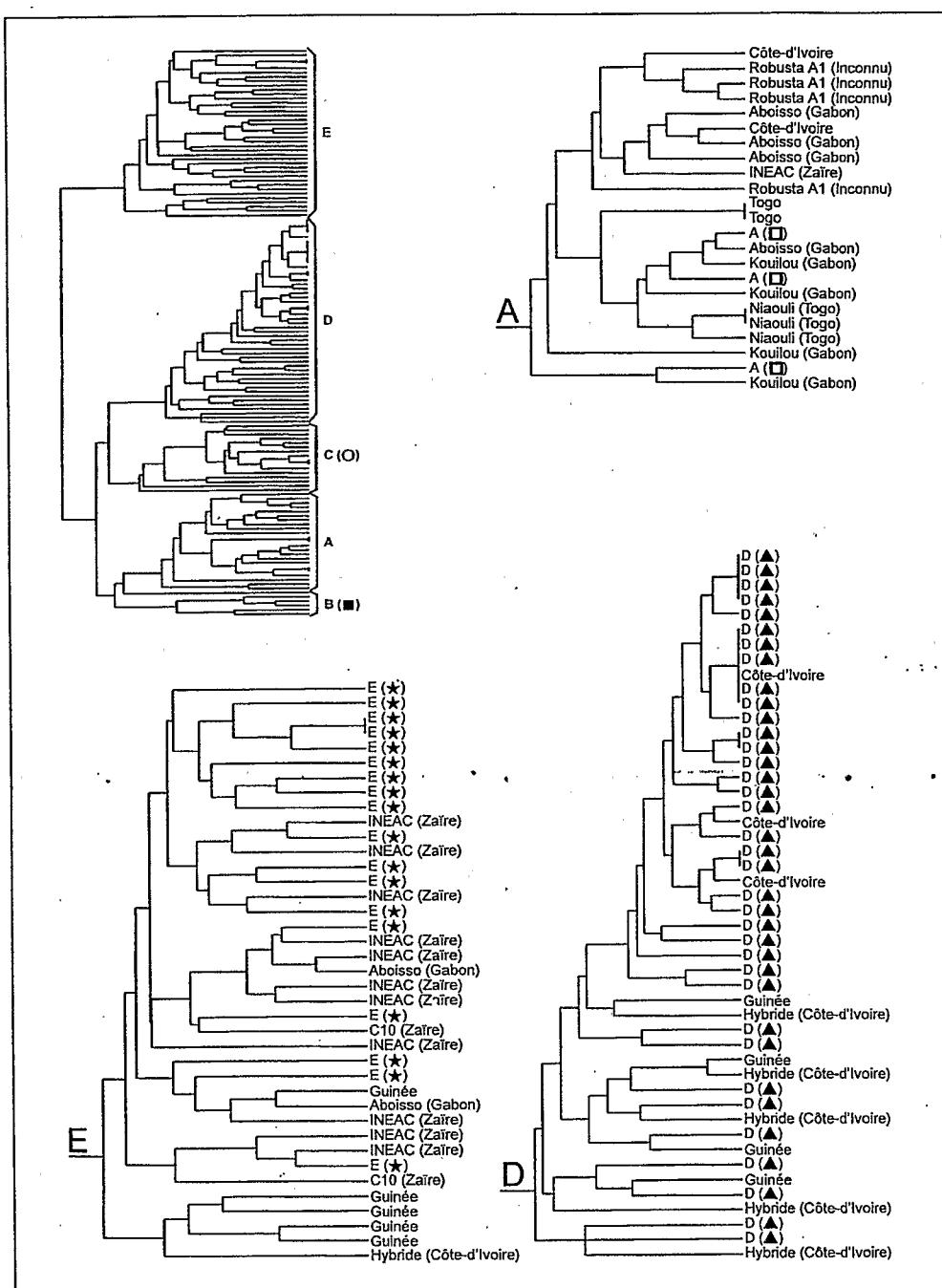


Figure 2b. Classification de 132 génotypes sauvages et cultivés suivant l'indice de similarité de Dice et la méthode d'agrégation UPGMA à partir des données observées pour 66 marqueurs RFLP.

La variabilité agromorphologique

A notre connaissance, seules deux études ont porté sur l'analyse de la diversité agromorphologique de *C. canephora* (MONTAGNON et al., 1992 ; LEROY et al., 1993). Dans les deux cas, les analyses en composantes principales réalisées ne permettent pas de révéler une forte structuration de l'espèce. En revanche, des comparaisons *a posteriori* entre les groupes établis sur la base des isoenzymes ont été effectuées dans plusieurs études et pour divers jeux de variables agromorphologiques (BERTHAUD, 1986 ; MONTAGNON et al., 1992 ; LEROY et al., 1993 ; MONTAGNON et LEROY, 1993 ; MONTAGNON et al., 1993 ; MOSCHETTO et al., 1996). Des différences significatives entre les moyennes des groupes isoenzymatiques ont ainsi pu être mises en évidence pour certains caractères : morphologie foliaire, longueur des entre-nœuds, ramification, sensibilité à la sécheresse, phénologie de la fructification, sensibilité à la rouille orangée due à *Hemileia vastatrix*. En revanche, il n'est pas possible de déterminer, en plantation, l'appartenance d'un cafier à un groupe génétique d'après sa morphologie.

Dans notre étude, l'analyse des données agromorphologiques conduit à une classification du matériel sauvage en deux groupes majeurs auxquels s'ajoute un troisième groupe comportant deux individus relativement proches l'un de l'autre mais très distants des autres génotypes sauvages (figure 3a). Cette

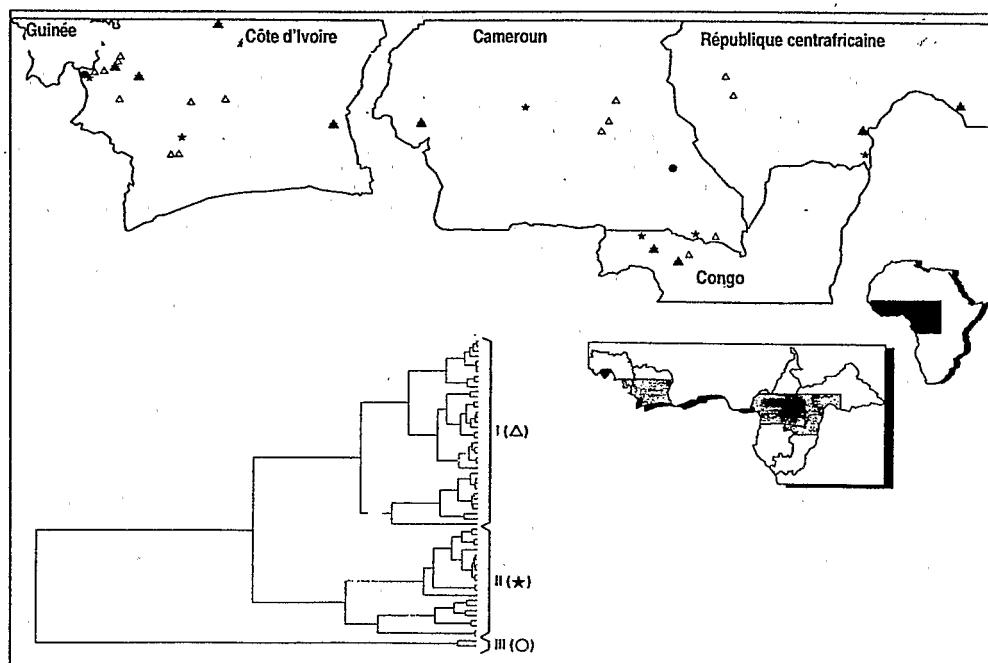


Figure 3a. Classification de 61 génotypes sauvages suivant la distance euclidienne et la méthode d'agrégation UPGMA à partir des données observées pour 11 marqueurs agromorphologiques.

structuration n'est pas d'ordre géographique : tous les pays prospectés comportent des représentants de chacun des groupes I et II. De plus, pour environ un tiers des populations, les individus provenant d'une même population se répartissent entre les deux groupes majeurs I et II. Des analyses de variance réalisées pour chacun des marqueurs agromorphologiques étudiés révèlent une différence significative entre les moyennes des groupes I et II pour la longueur du cycle de fructification, la granulométrie et la morphologie foliaire.

Lorsque le matériel cultivé est pris en compte, la structure de la diversité est globalement semblable à celle qui est obtenue lorsque seuls les génotypes sauvages sont analysés (figure 3b). La répartition des individus sauvages dans les groupes demeure inchangée à l'exception de deux génotypes du groupe sauvage II qui s'insèrent dans le groupe III. Aucun individu cultivé ne se retrouve dans le groupe III. Tous les génotypes originaires du Gabon, à l'exception d'un géotype du groupe Aboisso, ainsi que les individus des groupes Robusta A1 et hybrides s'intègrent dans le groupe I. Les individus de la République du Congo, excepté un géotype, et les génotypes prélevés dans des plantations en Côte d'Ivoire se retrouvent dans le groupe II.

Les relations entre les différents niveaux de diversité

La distribution des individus des groupes biochimiques au sein des groupes moléculaires et des groupes agromorphologiques (tableau 3) permet de comparer les structurations observées. Les groupes biochimiques présentent des diversités différentes. Le groupe biochimique 1, relativement homogène du point de vue moléculaire, correspond uniquement au groupe moléculaire D. Le groupe biochimique 2 présente une large diversité et comporte des

Tableau 3. Distributions des génotypes sauvages, d'une part, des génotypes sauvages et cultivés, d'autre part, classés suivant leur appartenance aux groupes biochimiques au sein des groupes moléculaires et des groupes agromorphologiques. Pour chacune des comparaisons, seuls les génotypes communs aux analyses correspondant aux deux marqueurs comparés ont été pris en compte.

	Groupes biochimiques	Groupes moléculaires					Groupes agromorphologiques		
		A	B	C	D	E	I	II	III
Génotypes sauvages	1	0	0	0	30	0	14	7	0
	2	2	4	12	1	12	7	7	1
Génotypes sauvages et cultivés	1	0	0	0	32	1	17	9	0
	2	6	4	12	8	29	16	20	2
	3	13	0	0	0	1	8	1	0

Diversité génétique des plantes tropicales cultivées

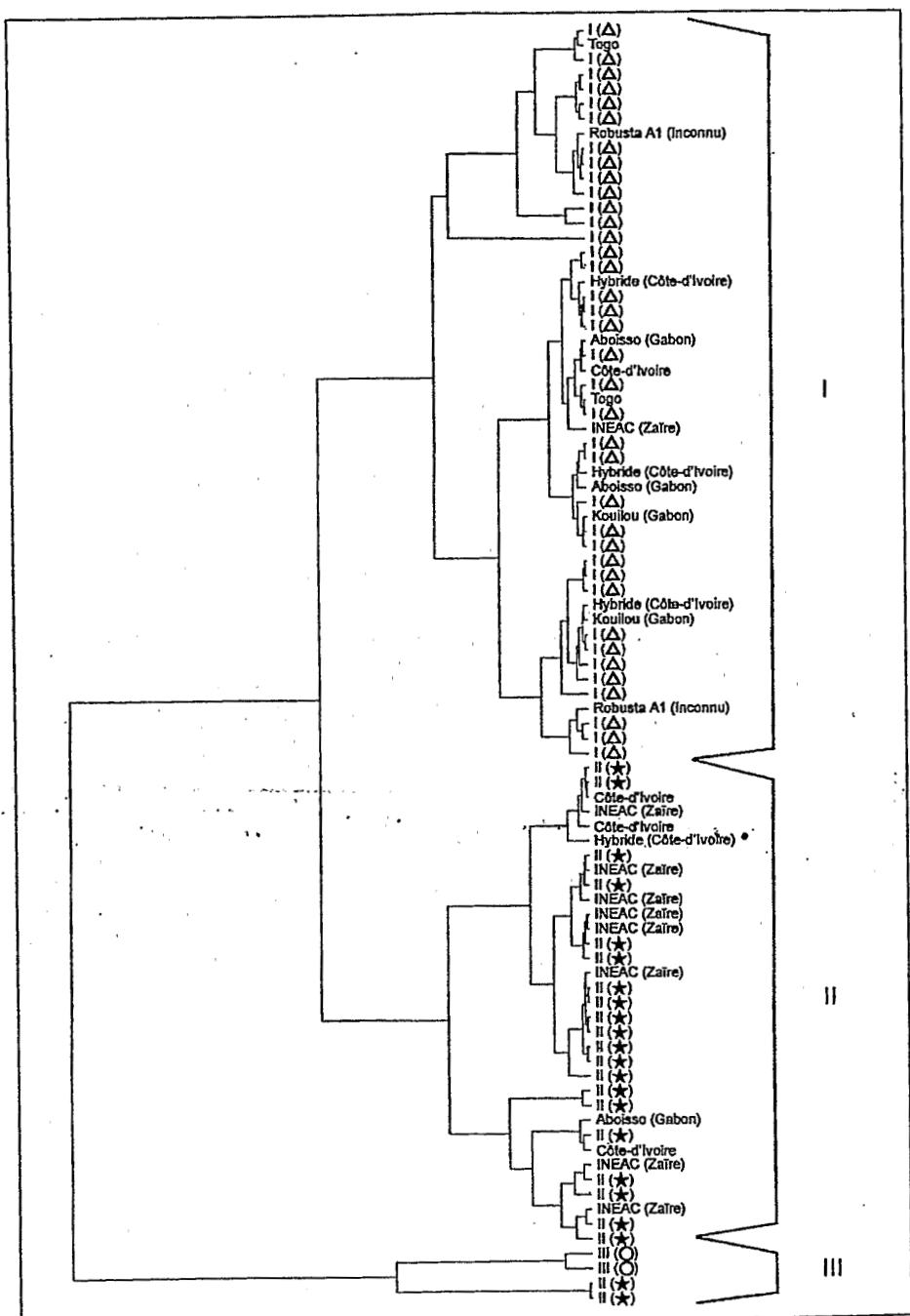


Figure 3b. Classification de 87 génotypes sauvages et cultivés suivant la distance euclidienne et la méthode d'agrégation UPGMA à partir des données observées pour 11 marqueurs agromorphologiques.

représentants des cinq groupes moléculaires. Lorsque seuls les génotypes sauvages sont pris en compte, une concordance quasi parfaite (un individu fait exception) entre le groupe biochimique 1 et le groupe moléculaire D est observée ; les individus du groupe biochimique 2 se répartissent dans les groupes moléculaires A, B, C et E. Lorsque les génotypes sauvages et cultivés sont considérés simultanément, les concordances mises en évidence avec les génotypes sauvages seuls ne sont pas modifiées dans leurs grandes lignes. La variabilité biochimique des génotypes cultivés est plus large que celle des génotypes sauvages. Le groupe biochimique 3, propre aux génotypes cultivés, correspond essentiellement au groupe moléculaire A.

Les marqueurs agromorphologiques mettent en évidence une structuration relativement forte de la diversité de *C. canephora* en deux groupes majeurs. Cependant, aucune concordance entre les deux groupes biochimiques et les trois groupes agromorphologiques ne peut être établie. De même, la structure agromorphologique ne coïncide pas avec celle qui est issue des marqueurs de type RFLP. Le fait que chaque groupe morphologique inclut des représentants des différents groupes biochimiques et moléculaires rend compte de l'impossibilité de distinguer les groupes Guinéen et Congolais d'après leurs caractéristiques morphologiques. Des pressions de sélection similaires se sont probablement exercées en Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale, qui ont abouti à des formes morphologiquement indifférenciées.

La forte concordance des structures observées avec les deux types de marqueur neutre utilisés, isoenzymes et RFLP, conforte la classification au sein de *C. canephora* (tableau 4). De plus, les résultats de notre étude prouve l'intérêt

Tableau 4. Concordance des structures de la diversité sauvage et cultivée observées à l'aide de marqueurs isoenzymatiques et RFLP au cours de trois études successives et composition en matériel sauvage, prélevé dans des plantations et sélectionné, des groupes observés.

BERTHAUD (1986)				MONTAGNON et al. (1992)				Notre étude		
								Matériel		
Isoenzymes		Isoenzymes	Isoenzymes	RFLP	Sauvage	Plantation	Sélectionné			
Guinéens	Guinéens	1	D		Côte d'Ivoire Guinée	Côte d'Ivoire Guinée	Hybride (Côte d'Ivoire)			
		B			Centrafrlique E					
	SG2	2	C		Centrafrlique O					
Congolais			E		Cameroun Congo NO					
					Congo Cameroun S	Guinée	INEAC (Rép. du Congo) C10 (Rép. du Congo)			
	SG1	3	A		Congo NO Cameroun SE	Togo Côte d'Ivoire	Kouïlou (Gabon) Aboisso (Gabon) Niaouli (Togo) Robusta A1(inconnu)			

des marqueurs moléculaires pour la structuration de *C. canephora*. D'une part, les marqueurs RFLP permettent, pour un nombre de locus équivalent, de révéler un nombre moyen d'allèles par locus polymorphe plus important que les marqueurs biochimiques (6,6 contre 3,6). D'autre part, les marqueurs RFLP permettent d'affiner la structuration en mettant en évidence une structuration intra-groupe : le groupe Congolais défini par BERTHAUD (1986) correspond à quatre groupes moléculaires.

La valorisation et la gestion des ressources génétiques

La structuration de la diversité et la valorisation des ressources génétiques

A l'aide des locus isoenzymatiques discriminant les groupes Guinéen et Congolais, BERTHAUD (1986) a identifié des hybrides intergroupes dans le matériel cultivé. Parmi les 12 hybrides intergroupes repérés, 4 correspondent aux 6 meilleurs clones vulgarisés. Cette observation a amené J. Berthaud à proposer un schéma de sélection récurrente réciproque de *C. canephora* fondé sur l'utilisation de ces deux groupes. L'efficacité de ce schéma a été démontrée par la suite (LEROY et al., 1993), ce qui confirme qu'il est important de connaître la structure de la diversité pour exploiter au mieux les ressources génétiques.

Les résultats de l'étude sur les marqueurs moléculaires devraient permettre d'améliorer ce schéma de sélection. En effet, d'une part, il faudrait s'assurer qu'il n'existe pas de combinaisons à l'intérieur du groupe Congolais présentant une hétérosis plus forte que l'hétérosis moyenne entre les groupes Guinéen et Congolais. D'autre part, si les hybrides entre Guinéen et Congolais restent les plus intéressants, des résultats préliminaires semblent indiquer que la valeur de l'hétérosis entre les groupes Guinéen et Congolais dépend du groupe moléculaire auquel appartient l'individu du groupe Congolais. Ainsi, en se fondant uniquement sur les distances génétiques établies à l'aide des marqueurs RFLP, l'hétérosis entre les individus classés dans les groupes D et C pourrait être moins forte que celle entre les individus classés dans les groupes E et C.

La structuration de la diversité et la gestion des ressources génétiques

Les résultats de cette étude permettent d'avancer un certain nombre de recommandations pour assurer une meilleure gestion *ex situ* des ressources génétiques de *C. canephora*.

La plupart des collections de *C. canephora* rassemblent surtout du matériel cultivé et sont fortement redondantes. Or notre étude montre qu'une grande partie de la diversité incluse dans le matériel sauvage n'est pas représentée dans le matériel cultivé. De plus, le matériel cultivé ne recèle pas une diversité originale par rapport au matériel sauvage. Par conséquent, le matériel sauvage collecté au cours des nombreuses missions de prospection et conservé en Côte d'Ivoire constitue réellement la plus grande source de variabilité disponible pour cette espèce. Des efforts devraient donc être consentis pour préserver cette collection que ce soit en réalisant la duplication du matériel végétal ou en envisageant d'autres modes de conservation.

En Côte d'Ivoire jusqu'à présent, les deux collections de cafiers cultivés et sauvages sont gérées de manière indépendante, ce qui multiplie le travail de gestion. Nos résultats indiquent qu'il est possible d'envisager la collection dans sa globalité et de la hiérarchiser sur la base des groupes moléculaires. Par ailleurs, l'utilisation des algorithmes de sélection qui maximisent la diversité intragroupe, tels que celui proposé par NOIROT et al. (1996), devrait permettre, en définissant une *core collection*, d'optimiser la gestion de la collection globale et d'établir des priorités tant pour la conservation que pour l'évaluation, l'utilisation et la diffusion des ressources en collection.

Actuellement, le matériel végétal est uniquement maintenu sous forme de collection de génotypes au champ. La création de *core collections* stratifiées et de petite taille pourrait permettre de conserver des gènes plutôt que des génotypes en constituant rationnellement des mélanges de graines au sein de chacun des groupes génétiques mis en évidence dans notre étude. La conservation de plantules issues de mélanges de graines en vitrothèque a montré ses limites : des groupes génétiques sont rapidement perdus, notamment pour *C. canephora* (DUSSEZ et al., 1997). En revanche, la cryoconservation de graines, déjà utilisée pour *C. arabica* (DUSSEZ et al., 1998), constituerait une solution intéressante par rapport à la conservation au champ.

Conclusion

Notre étude a permis de montrer que les marqueurs moléculaires de type RFLP permettent de structurer la diversité des cafiers *C. canephora*. Cette structuration est largement en accord avec celle qui a été obtenue précédemment, mais aussi avec la structuration issue de notre étude par les marqueurs biochimiques. Cependant, les marqueurs moléculaires révèlent une différenciation plus importante que les autres marqueurs.

Bien que notre travail ait porté sur un échantillon réduit des collections conservées en Côte d'Ivoire, il est intéressant de constater que le matériel cultivé ne se différencie généralement pas du matériel sauvage et qu'une partie

Diversité génétique des plantes tropicales cultivées

de la diversité de ce matériel sauvage n'a pas encore été exploitée pour la culture de *C. canephora*. De plus, il existe une différenciation à l'intérieur du groupe Congolais, le matériel originaire d'Afrique centrale se structurant en plusieurs groupes moléculaires. D'autre part, le matériel originaire d'Afrique de l'Ouest, du groupe Guinéen, classé dans un seul groupe moléculaire, n'est pas plus distant des groupes d'Afrique centrale que ces derniers ne le sont entre eux.

Nos résultats permettent d'envisager de nouvelles stratégies aussi bien pour la sélection variétale que pour une gestion rationnelle des ressources génétiques des cafériers *C. canephora*.

Annexe

Matériel végétal

Un échantillonnage de 132 génotypes a été réalisé au sein des collections de matériel sauvage et cultivé conservées en Côte d'Ivoire (tableaux 1 et 2). Les 77 génotypes sauvages ont été échantillonés afin d'avoir une représentation de chacune des 45 populations sylvestres prospectées (tableau 1). Pour le matériel cultivé un échantillonnage aléatoire proportionnel a été réalisé pour chacune des dix origines principales identifiées en collection (tableau 2). La nature des regroupements est très hétérogène. Pour le matériel ayant fait l'objet d'une donation, la dénomination des groupes correspond au nom, à la localisation de la station expérimentale donatrice ou au type variétal du matériel (Robusta ou Kouilou). Pour ces groupes, le pays d'origine peut correspondre à la zone de culture ou au centre de sélection. Pour le matériel collecté dans les plantations, le pays mentionné est celui dans lequel les prélèvements ont été effectués. Le groupe dénommé « hybrides » rassemble des génotypes pour lesquels on a montré *a posteriori* qu'il s'agissait d'hybrides entre des formes originaires d'Afrique de l'Ouest et des formes provenant d'Afrique centrale (BERTHAUD, 1983). Enfin, l'historique de l'introduction du groupe Robusta A1 n'a pu être retracée. L'origine de ce groupe reste donc inconnue.

Analyse par RFLP

L'extraction de l'ADN génomique total a été réalisée selon la méthode décrite par AGWANDA *et al.* (1997). La technique de marquage moléculaire utilisée est celle qui a été décrite par LASHERMES *et al.* (1995). Deux enzymes de restriction ont été utilisées : *EcoRI* et *HindIII*. Les 26 sondes testées proviennent d'une banque génomique de *C. arabica*. Parmi celles-ci, dix sondes ont été retenues pour leur caractère polymorphe et monolocus. Chaque sonde a été utilisée après digestion par l'une ou l'autre des enzymes de restriction. La présence et l'absence des 66 bandes correspondant à 66 allèles ont été codées 1 et 0, respectivement.

Analyse enzymatique

Au sein de l'échantillon total de 132 individus (tableaux 1 et 2), l'analyse du polymorphisme isoenzymatique a été réalisée sur 60 individus sauvages et 50 individus cultivés. Parmi les 60 individus sauvages, 48 sont communs aux analyses réalisées sur les marqueurs agromorphologiques. Pour le matériel cultivé, le nombre d'individus communs aux analyses isoenzymatiques et agromorphologiques est de 26. Les techniques d'extraction, d'électrophorèse et de révélation des isoenzymes sont celles de BERTHAUD (1986). Les analyses ont porté sur cinq systèmes enzymatiques révélant huit locus : estérases α et β (3 locus), 6-phosphogluconate déshydrogénase (2 locus), isocitrate déshydrogénase (1 locus), phosphoglucomutase (1 locus) et phosphoglucosomérase (1 locus). Les 29 allèles identifiés ont été codés en présence ou en absence (1 ou 0).

Etude agromorphologique

Au sein des 132 génotypes étudiés (tableaux 1 et 2), 61 génotypes sauvages et 26 génotypes cultivés ont été évalués à partir de 11 marqueurs agromorphologiques. Quatre

Diversité génétique des plantes tropicales cultivées

classes de marqueurs peuvent être distinguées : les marqueurs morphologiques (longueur, largeur, surface et forme des feuilles, longueur de l'acumen, longueur du pétiole) ; les marqueurs technologiques (poids de 100 grains, taux de grains caracolis, rendement en café marchand, taux de loges vides, pour le matériel sauvage uniquement) ; les marqueurs phénologiques (pour les génotypes sauvages uniquement, longueur du cycle de fructification et étalement de la maturation des cerises) ; les marqueurs agronomiques (production annuelle de cerises). Pour une description détaillée des marqueurs, on peut se reporter à ANTHONY (1992).

Analyses statistiques de classification

Pour les marqueurs RFLP et isoenzymatiques, les matrices de distance entre individus ont été calculées en utilisant l'indice de similarité de DICE (1945). La distance euclidienne a été utilisée pour les marqueurs agromorphologiques. Pour les trois types de marqueurs, la méthode d'agrégation utilisée pour construire les dendrogrammes est la méthode UPGMA.

Références bibliographiques

- AGWANDA O.A., LASHERMES P., COMBES M.C., CHARRIER A., 1997. Identification of RAPD markers for resistance to coffee berry disease, *Colletotrichum kahawae*, in arabica coffee. *Euphytica*, 97 : 241-248.
- ANTHONY A., 1992. Les ressources génétiques des cafiers : collecte, gestion d'un conservatoire et évaluation de la diversité génétique. Montpellier, France, Orstom, collection Travaux et documents, 320 p.
- ANTHONY F., COUTURON E., DE NAMUR C., 1985. Les cafiers sauvages du Cameroun : résultats d'une mission de prospection effectuée par l'Orstom en 1983. In : XI^e colloque scientifique international sur le café. Paris, France, ASIC, p. 495-501.
- BERTHAUD J., 1980. L'incompatibilité chez *Coffea canephora* : méthode de test et déterminisme génétique. *Café, cacao, thé*, 24 : 267-274.
- BERTHAUD J., 1983. Liste du matériel provenant des prospections de Côte d'Ivoire. Paris, France, Orstom (document interne).
- BERTHAUD J., 1986. Les ressources génétiques pour l'amélioration des cafiers africains diploïdes. Montpellier, France, Orstom, collection Travaux et documents, 379 p.
- BERTHAUD J., GUILLAUMET J.L., 1978. Les cafiers sauvages en Centrafrique : résultats d'une mission de prospection (janvier-février 1975). *Café, cacao, thé*, 3 : 171-186.
- BRIDSON D.M., VERDCOURT B., 1988. Rubiaceae (Part 2). In : Flora of tropical East Africa, R.M. Polhill éd., Rotterdam, Pays-Bas, Balkema, 727 p.
- CHARRIER A., ESKES B., 1997. Les cafiers. In : L'amélioration des plantes tropicales, A. Charrier et al. éd., Montpellier, France, Cirad-Orstom, collection Repères, p. 171-196.
- CORDIER L., 1961. Les objectifs de la sélection cafière en Côte d'Ivoire. *Café, cacao, thé*, 5 : 147-159.
- COUTURON E., 1980. Le maintien de la viabilité des graines de cafiers par le contrôle de leur teneur en eau et de la température de stockage. *Café, cacao, thé*, 24 : 27-32.
- CROS J., COMBES M.C., CHABRILLANGE N., DUPERRAY C., MONNOT DES ANGLES A., HAMON S., 1995. Nuclear DNA content in the subgenus *Coffea*: inter- and intra-specific variation in African species. *Canadian Journal of Botany*, 73 : 14-20.
- DICE L.R., 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 26 : 297-302.
- DUSSERT S., CHABRILLANGE N., ANTHONY F., ENGELMANN F., RECALC T., HAMON S., 1997. Variability in storage response within a coffee (*Coffea* spp.) core collection under slow growth conditions. *Plant Cell Report*, 16 : 344-348.
- DUSSERT S., CHABRILLANGE N., ENGELMANN F., ANTHONY F., LOUARN J., HAMON S., 1998. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatiflora*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate. *Seed Science Research*, 8 : 9-15.

Diversité génétique des plantes tropicales cultivées

- LASHERMES P., COMBES M.C., CROS J., 1995. Use of non-radioactive digoxigenin-labelled DNA probes for RFLP analysis in coffee. In : Techniques et utilisations des marqueurs moléculaires, A. Berville et M. Tressac éd., Paris, France, Inra, p. 21-25.
- LASHERMES P., COMBES M.C., TROUSLOT P., CHARRIER A., 1997. Phylogenetic relationships of coffee-tree species (*Coffea L.*) as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. Theoretical and Applied Genetics, 94 : 947-955.
- LASHERMES P., TROUSLOT P., ANTHONY F., COMBES M.C., CHARRIER A., 1996. Genetic diversity for RAPD markers between cultivated and wild accessions of *C. arabica*. Euphytica, 87 : 59-64.
- LE PIERRES D., CHARMETANT P., YAPO A., LEROY T., COUTURON E., BONTEMPS S., TEHE H., 1989. Les cafétiers sauvages de Côte d'Ivoire et de Guinée : bilan des missions de prospection effectuées de 1984 à 1987. In : XIII^e colloque scientifique international sur le café. Paris, France, ASIC, p. 420-428.
- LEROUX T., MONTAGNON C., CHARRIER A., ESKES A., 1993. Reciprocal recurrent selection applied to *Coffea canephora* Pierre. 1. Characterization and evaluation of breeding populations and value of intergroup hybrids. Euphytica, 67 : 113-125.
- MONTAGNON C., LEROY T., 1993. Réaction à la sécheresse de jeunes cafétiers *Coffea canephora* de Côte d'Ivoire appartenant à différents groupes génétiques. Café, cacao, thé, 37 : 179-190.
- MONTAGNON C., LEROY T., CILAS C., ESKES A.B., 1993. Differences among clones of *Coffea canephora* in resistance to the scolytid coffee twig-borer. International Journal of Pest Management, 39 : 204-209.
- MONTAGNON C., LEROY T., ESKES A.B., 1998. Amélioration variétale de *Coffea canephora*. 2. Les programmes de sélection et leurs résultats. Plantations, recherche, développement, 5 : 89-98.
- MONTAGNON C., LEROY T., YAPO A., 1992. Etude complémentaire de la diversité génotypique et phénotypique des cafétiers de l'espèce *C. canephora* en collection en Côte d'Ivoire. In : XIV^e colloque scientifique international sur le café. Paris, France, ASIC, p. 444-450.
- MOSCHETTO D., MONTAGNON C., GUYOT B., PERRIOT J.J., LEROY T., ESKES A.B., 1996. Studies on the effect of genotype on cup quality of *Coffea canephora*. Tropical Science, 36 : 18-31.
- DE NAMUR C., COUTURON E., SITA P., ANTHONY F., 1988. Résultats d'une mission de prospection des cafétiers sauvages du Congo. In : XII^e colloque scientifique international sur le café. Paris, France, ASIC, p. 397-404.
- NOIROT M., ANTHONY F., HAMON S., 1996. The principal component scoring: a new method of constituting a core collection using quantitative data. Genetic Resources and Crop Evolution, 43 : 1-6.
- ROBERTS E.H., 1973. Predicting the storage life of seeds. Seed Science and Technology, 1 : 499-514.



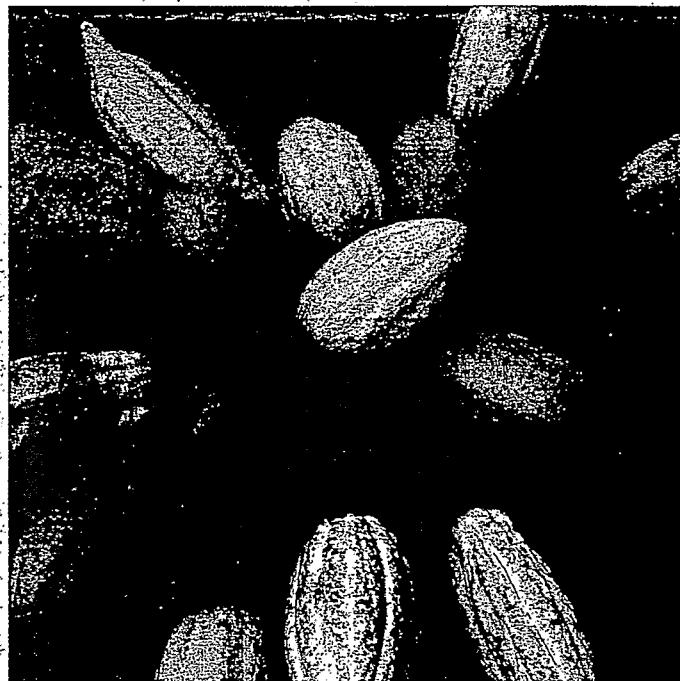
Doc Personnel. Perla HAMON

■ REPÈRES

Diversité génétique des plantes tropicales cultivées

Perla Hamon, Marc Séguin, Xavier Perrier
et Jean Christophe Glaszmann

Éditeurs scientifiques



CIRAD

D.P. = 1999



Centre
de coopération
internationale
en recherche
agronomique
pour le
développement

Dans les années 60, la communauté scientifique prenait conscience des menaces que les perturbations des milieux naturels et l'expansion des variétés modernes faisaient peser sur les ressources génétiques de nombre d'espèces cultivées. Elle s'est alors mobilisée pour collecter ces ressources. C'est ainsi qu'une multitude de collections ont été rassemblées à travers le monde. Aujourd'hui, ces collections ont atteint une taille qui rend difficiles leur entretien et leur caractérisation. La question de leur gestion se pose de manière aiguë. Conservation, évaluation, utilisation des ressources génétiques doivent être repensées.

Pour répondre à ces préoccupations, Frankel et Brown ont introduit dans les années 80 le concept de *core collection* : un échantillon d'accéssions issues d'une collection plus vaste et choisies pour représenter au mieux le spectre de diversité existant. Mais sur quels critères et avec quels outils constituer cet échantillon ?

Les caractères agronomiques, prioritaires pour le sélectionneur, sont parfois difficiles à évaluer et leur déterminisme génétique est souvent complexe. Les marqueurs génétiques moléculaires, qui n'ont aucune utilité directe, révèlent une structuration de la diversité, qui peut servir de base pour construire une *core collection*. Les relations entre ces deux niveaux de variabilité sont mal connues : les différents types de marqueurs moléculaires sont-ils équivalents ? de fortes structurations à l'échelle moléculaire sont-elles systématiquement associées à de fortes structurations pour les caractères agronomiques ? les structures à ces deux niveaux sont-elles alors concordantes ?

Les outils statistiques, qui permettent d'analyser les ressemblances entre les individus ou les populations, sont indispensables pour repérer une éventuelle structuration de la diversité. Mais quelle méthode est la mieux adaptée à chaque type de marqueur, quelle est la fiabilité de l'image qu'elle donne de la diversité et quelle signification biologique peut-on lui accorder ?

Cet ouvrage apporte des éléments de réponse à ces questions en partant de l'étude de la diversité génétique de onze plantes tropicales. Trois chapitres méthodologiques — sur le marquage biochimique et moléculaire, l'analyse des données et la constitution de *core collections* — viennent compléter ces études.

Diffusion : La Librairie du Cirad
BP 5035
34032 Montpellier Cedex 1
France

ISSN 1251-7224
ISBN 2-87614-334-8