

Biodiversité et agriculture

**ÉTUDE DES HYBRIDES NATURELS ENTRE
COFFEA ARABICA ET *C. CANEPHORA*
DE NOUVELLE-CALÉDONIE**

Daniel LE PIERRÈS

Mai 1999



**Institut de recherche
pour le développement**

© IRD, Nouméa, 1999

/Le Pierrès, D.

ÉTUDE DES HYBRIDES NATURELS ENTRE *COFFEA ARABICA* ET *C. CANEPHORA* DE NOUVELLE-CALÉDONIE

Nouméa : IRD. mai 1999. 44 p.

CAFEIER ; HYBRIDATION INTERSPECIFIQUE ; AMELIORATION GENETIQUE ; BIOLOGIE MOLECULAIRE ; MALADIE DES PLANTES ; ROUILLE ; RESISTANCE ; FLUX DE GENES ; INTROGRESSION ; CYTOMETRIE DE FLUX ; AFLP ; COFFEA ARABICA ; COFFEA CANEPHORA ; HEMILEIA VASTATRIX / NOUVELLE CALEDONIE

SOMMAIRE

	page
Résumé	2
Introduction	3
Historique du programme	4
Les prospections	5
<i>Résultats</i>	5
<i>Discussion</i>	6
1 - Les espèces parentales	6
2 - Les hybrides recueillis	7
3 - Les facteurs favorables à la création des HNC	9
a - L'abandon des plantations	9
b - Des températures basses et humidité permanente	10
c - La résistance à la rouille	13
d - l'intérêt marqué par les planteurs pour les plantes hybrides	13
Estimation du niveau de ploïdie par cytométrie de flux	15
<i>Résultats</i>	15
Les témoins	15
Les hybrides naturels	16
Le biais introduit par les pertes au sauvetage	17
Les variations de niveau de ploïdie dans les descendance d'HNC	17
<i>Discussion</i>	20
Analyse moléculaire (AFLP) des HNC	22
<i>Résultats et Discussion</i>	22
Interprétation du polymorphisme	23
Estimation du niveau d'introgession au sein des HNC	27
Conclusion générale	29
Références bibliographiques	31
Remerciements	33
Annexe I : liste des hybrides de caféiers prospectés en 1996	8 pages
Annexe II : liste des hybrides tétraploïdes présentant un intérêt pour l'amélioration de <i>C. arabica</i>	1 page

Résumé

Les conditions climatiques, qui caractérisent le centre de la Nouvelle-Calédonie, forte humidité permanente, basses températures pendant l'hiver austral, et absence d'une saison sèche marquée favorisent la formation d'hybrides naturels entre *Coffea arabica* et *C. canephora* dans les plantations mixtes abandonnées. Quatre cent génotypes ont été collectés dans la zone comprise entre Canala, Touho, Poya et La Foa, et mis en collection à la Station CIRAD de Pocquereux pour l'observation de leurs caractéristiques agronomiques. Ils ont été analysés en cytométrie de flux pour estimer leur nombre de chromosomes et le pourcentage d'introgression de génome canephora dans les hybrides tétraploïdes proches de *C. arabica* a été évalué par analyses moléculaires de l'ADN (AFLP).

Ces hybrides montrent une grande diversité génétique. Leur niveau de ploïdie est très variable allant de la diploïdie ($2x= 22$ chromosomes) à l'hexaploïdie. La majorité d'entre eux se compose de F1 triploïdes et tétraploïdes ainsi que de leurs descendances sur plusieurs générations obtenues par autofécondation, rétrocroisement avec les espèces parentes et intercroisement entre les hybrides. Ils sont résistants aux races de rouille (*Hemileia vastatrix*) présentes en Nouvelle-Calédonie.

Les hybrides tétraploïdes résultant de rétrocroisements entre des hybrides F1 avec *C. arabica* constituent le groupe le plus intéressant à exploiter. Jusqu'à leur découverte, la seule source de résistance aux maladies pour l'amélioration de *C. arabica* était l'hybride de Timor. Les hybrides néo-calédoniens élargissent donc considérablement le pool génétique utilisable à ces fins. Cependant, les niveaux d'introgression de génome canephora dans le génome arabica de ces hybrides restent très élevés (30 à 80 %). De ce fait, ils ne peuvent pas être exploités tels quels pour la production. En revanche, ayant été soumis à la pression de sélection imposée par les conditions environnementales de Nouvelle-Calédonie, ils présentent un intérêt pour l'amélioration des arabica cultivés localement. Leur utilisation dans d'autres zones de caféiculture reste conditionnée à leur évaluation vis-à-vis des contraintes biotiques et abiotiques prévalant dans ces zones.

Etude des hybrides naturels entre *Coffea canephora* et *C. arabica* de Nouvelle-Calédonie

par

Daniel LE PIERRES

Centre I.R.D. de NOUMEA, NOUVELLE-CALEDONIE

La caféiculture actuelle concerne essentiellement deux espèces : *Coffea arabica* et *C. canephora*. Celles-ci ont des caractéristiques différentes d'adaptation, de rusticité, et de qualités agronomiques et gustatives de leurs cafés. *C. arabica*, espèce d'altitude acclimatée aux milieux tropicaux frais et humides, est l'espèce la plus cultivée au monde. Elle produit un café moyennement chargé en caféine (1,2 % de la MS) très apprécié des consommateurs. C'est cependant une espèce sensible aux nématodes et aux maladies cryptogamiques dont la rouille orangée (*Hemileia vastatrix*). A l'inverse, *C. canephora*, originaire des plaines tropicales d'Afrique chaudes et humides, est plus rustique, mais produit un café contenant 2 à 3 fois plus de caféine et moins apprécié.

Des hybrides entre les 2 espèces ont été réalisés artificiellement avec pour objectif l'obtention d'un café de basse altitude amélioré pour le goût. Ce sont entre autres les hybrides arabusta (Capot et al., 1968). De tels hybrides peuvent apparaître spontanément dans les zones où les deux espèces coexistent. Ces hybrides peuvent ensuite se croiser spontanément avec l'espèce *C. arabica* et donner des plants où une grande partie du génome *C. canephora* a été éliminé. Seules restent les parts du génome qui confèrent un avantage sélectif aux hybrides qui les portent. Ce sont en particulier les parts du génome concernant la résistance aux maladies. Un tel cas d'introgession naturel a déjà été mis en évidence : c'est l'Hybride de Timor, qui a été largement utilisé pour transférer la résistance à la rouille chez *C. arabica* avec les variétés Catimor.

Historique du programme

La mise en place de ce programme résulte de la découverte en Nouvelle-Calédonie de caféiers au phénotype proche de *C. arabica* et résistants à la rouille du caféier (*Hemileia vastatrix*).

Dès 1966, les planteurs de Nouvelle-Calédonie signalent l'existence de formes hybrides dans les plantations (Cambrony, 1966). Ultérieurement, Ph. Picot identifie ces caféiers comme étant des hybrides naturels (HNC) entre *C. canephora* et *C. arabica*.

En 1991, une mission CIRAD/IRD (P. Charmetant, D. Le Pierrès) est réalisée à la demande du CIRAD. Elle a, pour objectif, une première collecte afin de vérifier leur nature hybride.

Suite à cette prospection, une proposition de recherche est établie par A. Charrier (1992) pour évaluer les possibilités de valorisation de ces hybrides.

En 1993, le projet est budgétisé dans le cadre d'un contrat de développement Etat-Provinces sur un financement multilatéral de l'Etat, du Territoire, et des Provinces. Le financement de l'Etat est représenté par des contributions de l'IRD et du CIRAD. L'IRD doit apporter son soutien scientifique pour 3 ans par l'intermédiaire d'un généticien.

En février 1996, un généticien, M. Daniel LE PIERRES, spécialiste des hybrides de caféiers, est affecté au Centre IRD de Nouméa avec pour objectifs :

- de poursuivre la collecte de matériel
- de déterminer les niveaux de ploïdie des hybrides
- d'évaluer les niveaux d'introgession et la diversité génétique de ces hybrides.

Le couplage des résultats de cette étude avec l'évaluation agronomique des hybrides réalisée par le CIRAD, devrait permettre d'estimer leur potentiel d'utilisation dans les programmes d'amélioration des caféiers et, en particulier, de transfert des résistances aux maladies de *C. canephora* à *C. arabica*.

Les prospections

Deux séries de prospections ont eu lieu en 1991 et 1996. Elles ont été organisées et exécutées en collaboration avec le CIRAD, l'ADRAF, les Provinces et les planteurs. Des compléments de prospections ont été effectués par les Provinces suite à celle de 1991.

Elles avaient pour objectif de rassembler un nombre suffisant d'hybrides pour permettre leur étude génétique. Un total de 408 génotypes a été rassemblé : 124 au cours de la première prospection et 284 lors de la seconde. Le matériel a été collecté sous forme de baguettes et de jeunes plants. Les baguettes ont été utilisées pour la réalisation de boutures et de greffes sur porte-greffe congusta qui ont été mises en collection sur la station CIRAD de Pocquereux. Par ailleurs des lots graines bien formées ont été récoltés sur une vingtaine d'hybrides identifiés. L'ensemble de ces graines a été mis en pépinière sur la même station.

Au cours de la première prospection (1991), le niveau de ploïdie et le nombre de générations d'hybridations ont été estimés d'après les phénotypes des arbres.

Cette première prospection, conduite sur l'ensemble de l'aire de répartition des caféières a permis de délimiter une zone d'hybridations fréquentes située au centre de la Nouvelle-Calédonie.

La seconde prospection (1996) a été restreinte à cette zone. Les sites visités sont situés :

- en Province Nord (vallée de la Kouaoua et alentours de Canala) ;
- en Province Sud (régions de la vallée de La Foa, autour des localités de Farino, Tendéa et Sarraméa).

Résultats

Le tableau 1 indique les localités prospectées et les nombres et types d'hybrides collectés en 1991. Quatre types d'hybrides ont été récoltés : F1 triploïdes, F1 tétraploïde (ou arabusta), des backcross issus de triploïdes ou de tétraploïdes. Les backcross étaient majoritaires par rapport aux F1.

La description et l'origine du matériel végétal collecté lors de la seconde prospection sont donnés dans l'annexe I. Lors de cette prospection certains sites (Dogny, Konoyes et Tendéa) ont fourni plusieurs dizaines d'hybrides.

Tableau 1 : Localités prospectées – nombre et types d'hybrides collectés en 1991.

Localités	3x triploïde	AB arabusta	BC/3x backcross	BC/AB backcross	Prospection de 1991	Complément Prospections	Total prospecté	mis en collection
BRINON		1			1		1	1
Canala	1	2	9	2	14	1	15	5
Congouma	2	2			4		4	4
Donny	2		1	1	4	3	7	6
Farino			3		3		3	3
Gohapin	2	1		4	7	1	8	5
GUELATI		1	7		8		8	6
Kokingone			1		1		1	1
Konoyes			14		14		14	11
Méchin	1				1	1	2	1
Nakéty	1			1	2		2	2
Newa	1				1		1	1
Ny	4		8	1	13		13	9
Ouéroupiné	4		2		6		6	6
Pothé			15		15		15	10
RENARD	1		4		5	5	10	7
Sarraméa	1		6		7	1	8	5
Coula						1	1	1
Koindé						2	2	2
Moindou						1	1	1
Bourail						2	2	2
TOTAL	20	7	70	9	106	18	124	89

Discussion

1 – Les espèces parentales

Deux espèces diploïdes (*C. canephora* et *C. liberica*) et un hybride diploïde (congusta : *C. congensis* x *C. canephora*) sont présents en Nouvelle-Calédonie. Les deux espèces ont donné des hybrides avec *C. arabica*. Par contre, le congusta d'introduction récente (1980), et cultivé en parcelles homogènes, n'a pas participé aux hybridations.

La population néo-calédonienne de *C. canephora* est composée de plants très anciens à base génétique large et de leurs descendances devenues adultes. Ils sont généralement résistants à la rouille, seuls quelques pieds montrent une faible sensibilité à cette maladie, en particulier à

Canala. Cependant, les enquêtes n'ont pas permis de détecter des différences qualitatives de composition génétique entre les différentes plantations.

La présence de *C. liberica* a été enregistrée dans deux plantations. L'une à Canala et l'autre à Sarraméa. Dans la dernière, des hybrides naturels d'allure triploïde *C. arabica* x *C. liberica* et des hybrides diploïdes *C. canephora* x *C. liberica*, ont été collectés.

Par ailleurs, dans la vallée de la Kouaoua, un vieil arbre *C. canephora* tétraploïde portant des feuilles très larges typiques aux autotétraploïdes a été observé (OUE 23). Il ne portait pas de fruits et aucun hybride n'a été trouvé dans son voisinage immédiat. L'existence de *C. canephora* autotétraploïdes spontanés permet d'envisager l'existence d'hybrides naturels de type arabusta sur cytoplasme *C. canephora*.

Pour l'espèce tétraploïde *C. arabica*, le pool géniteur d'hybrides a une base génétique restreinte. Il est formé essentiellement par trois variétés sensibles à la rouille : typica, bourbon, et Le Roy. Visuellement, il est très difficile de distinguer les typica des bourbons, sous conditions d'abandon des caféières. En revanche, l'arabica Le Roy est facilement reconnaissable grâce à ses petites feuilles. Ce dernier cultivar a été observé à Ouéroupimé, Négropo, Letezère, et Couli.

Les dernières introductions d'arabica (BR/ PTG par le CIRAD et les catimors par le IIRD) ont été installées en plantations monospécifiques dans les années 1980. Leur impact sur la réalisation d'hybridations naturelles avec *C. canephora* n'est pas encore visible.

2 - Les hybrides recueillis.

L'étude des croisements interspécifiques *C. arabica* x *C. canephora* en condition contrôlée (Le Pierrès, 1995), a montré que la double fécondation classique dans ces hybridations conduit à des différences de remplissage en albumen des graines. Le tableau 2 compare les types de graines hybrides obtenus suivant la nature des croisements. Par rapport aux témoins "croisements intra-spécifiques", comme arabica x arabica ou canephora x canephora, qui donnent des graines normales, les croisements interspécifiques réalisent 2 types de graines suivant la différence de niveaux de ploïdie entre les géniteurs hybridés. Le croisement *C. arabica* ($2n=2x= 44$ chromosomes) femelle x *C. canephora* ($2n=2x= 22$ chromosomes) donne des embryons triploïdes à 33 chromosomes, et l'albumen des graines, pentaploïde, sera partiellement déficient ou squamiforme. A l'inverse, le croisement utilisant le géniteur *C. canephora* tétraploïdisé produira des graines normales à embryon 4x et à albumen 6x comme dans l'arabusta qui est dosé 1 génome arabica pour 2 génomes canephora. Par ailleurs,

le croisement triploïde n'est fécond que si le *C. arabica* est femelle, alors que le croisement tétraploïde fonctionne dans les deux sens de croisement.

Tableau 2 : Interactions génomiques au niveau de l'embryon et de l'albumen chez *C. arabica*, *C. canephora* et leurs hybrides 3x et 4x.

géniteurs femelle x mâle	génomés des embryons (ploïdie)		génomés des albumens (ploïdie)		types de graines
<i>C. arabica</i> x <i>C. arabica</i>	A-A	(4x)	<u>A-A-A</u>	(6x)	normal
<i>C. canephora</i> x <i>C. canephora</i>	C-C	(2x)	<u>C-C-C</u>	(3x)	normal
<i>C. canephora</i> (4x) x <i>C. canephora</i> (4x)	C-C-C-C	(4x)	<u>C-C-C-C-C-C</u>	(6x)	normal
F1 : <i>C. arabica</i> x <i>C. canephora</i>	A-C	(3x)	A-A-C	(5x)	squamiforme
F1 : <i>C. canephora</i> x <i>C. arabica</i>	A-C	(3x)	A-C-C	(4x)	0
F1 : <i>C. arabica</i> x <i>C. canephora</i> (4x)	A-C-C	(4x)	<u>A-A-C-C</u>	(6x)	normal
F1 : <i>C. canephora</i> (4x) x <i>C. arabica</i>	A-C-C	(4x)	A-C- <u>C-C-C</u>	(6x)	normal

A : génome composite d'un gamète *C. arabica* (composé des 2 génomes à 11 chromosomes : A₁ et A₂) ;

C : génome d'un gamète *C. canephora* (à 11 chromosomes) ;

les génomes "en soulignés" de l'albumen expliqueraient leur développement.

Lors des prospections réalisées en Nouvelle-Calédonie, les hybrides ont toujours été observés dans les plantations mixtes ou dans des petites parcelles d'*arabica* bordées par du *C. canephora*. Malgré des recherches intensives aucun hybride n'a été trouvé dans des parcelles de *canephora* bordées d'*arabica* (par exemples à Dogny et à Pierrat). Les hybrides ont généralement été trouvés à proximité d'un plant de *C. arabica*. Ces constatations indiquent que la majorité des hybrides a un parent maternel *C. arabica*. Le sens des croisements interspécifiques se ferait donc de manière asymétrique, et favoriserait quasi-exclusivement les hybrides sur cytoplasme *C. arabica*. Dans cette éventualité, ils peuvent aussi bien générer des F1 triploïdes avec du pollen normal de *C. canephora* ou des F1 tétraploïdes avec des grains de pollen non-réduits (ou diplogamètes) de l'espèce diploïde. Ces observations concordent avec les prévisions résultant des croisements contrôlés.

Par ailleurs, des générations de descendances des hybrides permettent la création de nouvelles formes par croisements des hybrides entre eux par autofécondation ou par rétrocroisements avec les deux espèces parentales.

Trois formes hybrides F1 (tableau 3), susceptibles d'exister naturellement en Nouvelle-Calédonie, peuvent participer à la reproduction – soit entre elles ou avec les espèces parentes, pour créer des G2 (2ème génération). Les premiers 21 types théoriques de G2 décrits dans le tableau 3 laissent, alors, entrevoir une grande variabilité des niveaux de ploïdie et de la nature du cytoplasme – arabica ou canephora - entre les descendances des différentes combinaisons génétiques. A cause de la faible fertilité du pollen des géniteurs 3x comparée à celle des géniteurs tétraploïdes (4x), les G2 issus de parent mâle triploïde (3x) seront certainement peu nombreux du. Cependant le niveau 2x des *C. canephora* empêcherait cette espèce de participer aux rétrocroisements en tant que femelle. Il en résulte que les hybrides G2 ont davantage de chances d'apparaître sur cytoplasme *C. arabica* que sur celui de *C. canephora*.

Tableau 3 : Réalisation des 21 combinaisons théoriques de G2 hybrides *C. arabica* x *C. canephora*

Femelle \ mâle	<i>C. arabica</i>	F1 3x cyto AR	F1 4x cyto AR	F1 4x cyto CA	<i>C. canephora</i>
<i>C. arabica</i>	XXXXXXXXX	<u>ε</u>	<u>++</u>	<u>++</u>	XXXXXXXXX
F1 3x cyto AR	<u>±</u>	<u>ε</u>	<u>±</u>	<u>±</u>	<u>±</u>
F1 4x cyto AR	<u>++</u>	<u>ε</u>	<u>++</u>	<u>++</u>	<u>++</u>
F1 4x cyto CA	++	ε	++	++	++
<i>C. canephora</i>	XXXXXXXXX	ε	?	?	XXXXXXXXX

Légende : ++ fort taux de réalisation de G2 ; ε très faible taux de réalisation de G2 ;
 e n souligné : G2 sur cytoplasme *C. arabica* ; ? réalisation incertaine

La qualité des hybrides F1 participe donc à l'amplification de la création de diversité. Elle explique la grande variabilité observée parmi les HNC récoltés.

3 - Les facteurs favorables à la création des HNC

a - L'abandon des plantations

L'absence de récoltes permet théoriquement à toutes les graines formées de participer à la création des futures générations à partir de semis naturels. Aucune étude d'évolution de

populations n'a été entreprises en condition d'abandon des caféières en Nouvelle-Calédonie. Des études effectuées en Côte d'Ivoire en culture mixte - *C. arabica* et *C. canephora*, ont indiquées que les taux d'hybridations naturelles étaient compris entre 5 et 10 % (Capot, 1972 ; Le Pierrès, 1995).

En condition d'abandon, les productions de graines sont très faibles - souvent inférieures à 50 Kg/ha. Les mauvaises conditions phytosanitaires, en particulier les attaques de scolytes font que seulement 4 % des graines tombées à terre germent. Dans ces conditions, on pourrait estimer la régénération naturelle annuelle entre 60 et 600 plants/ha. Seulement, trois à quelques dizaines de plants produits par hectare et par an seraient potentiellement hybrides.

L'historique de la caféiculture néo-calédonienne et l'âge maximum des HNC supportent l'hypothèse de la nécessité d'abandon des caféières pour la création des HNC. L'*arabica* a été planté le premier dès 1860. Les surfaces plantées atteignirent 2000 ha en 1900 sous l'impulsion du gouverneur Feillet. De 1912 à 1913, la rouille infesta tous les *arabica*, à tel point que la production tomba à moins de 200 tonnes. Les premiers *C. canephora* furent introduits du jardin de Buitenzorg (Java) en 1915. Cette deuxième espèce fut installée préférentiellement sur la côte Est où l'*arabica* avait pratiquement disparu et constitua alors très souvent des plantations monospécifiques sans *arabica*. Ailleurs, et surtout dans la chaîne vers la côte Ouest, les plantations mixtes furent presque partout adoptées sans arrachage des *arabica*. L'établissement de ce genre de plantations s'échelonna sur les toutes années 1920. De ces années jusqu'à 1939 – date où la production culmine à 2000 tonnes, les caféières furent intensément entretenues et le café ramassé avec la plus grande attention. Dans ces conditions l'apparition des premiers HNC ne peut pas, a priori, remonter avant 1939 ; ce qui fait que globalement l'âge maximal des HNC et la durée de leur création et évolution ne peuvent pas aujourd'hui dépasser 60 ans.

L'âge maximal estimé entre 50 et 60 ans est donné à un hybride F1 triploïde identifié à Dogny (DOG84). Ces hybrides très âgés, fondateurs des générations de rétrocroisement, sont difficiles à trouver, et ce sont leurs descendances qui sont le plus fréquemment observées.

b - Des températures basses et humidité permanente

Les conditions climatiques rencontrées dans les zones où se situent les caféières abandonnées de Nouvelle-Calédonie montrent des variations importantes entre la Côte Est et la côte Ouest. Le tableau 4 présente les données météorologiques moyennes fournies par METEO-FRANCE

N.-C pour La Foa, Canala et le col d'Amieu qui sont représentatifs des zones où se situent les hybrides naturels et les relevés météorologiques tirées du Rapport d'Activité du CIRAD (1998) pour les Stations de Ponérihouen et Pocquereux.

Tableau 4 : Données météorologiques moyennes du centre de la Nouvelle-Calédonie

Températures (en °C) en moyennes mensuelles

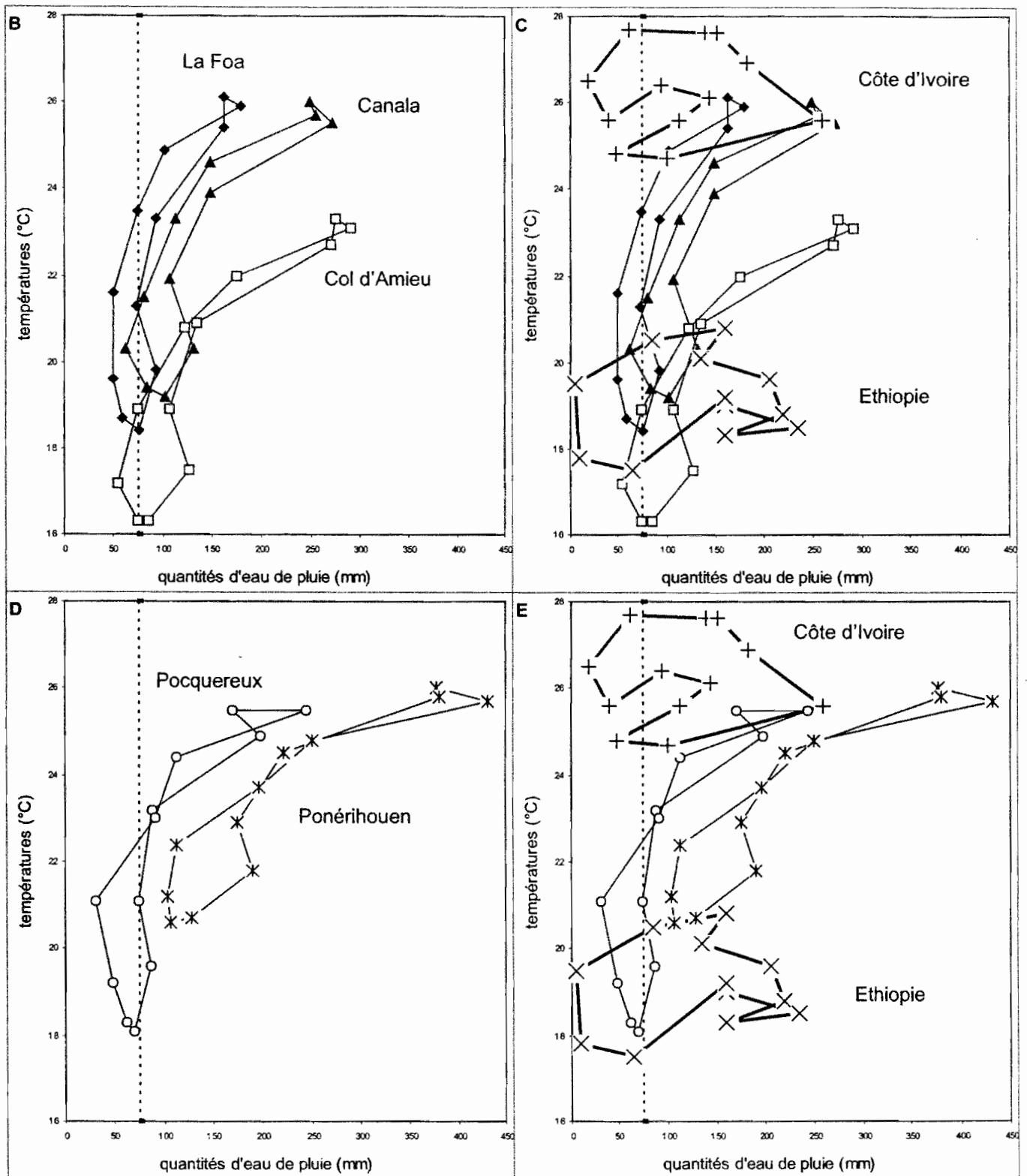
Précipitations (en mm) en moyennes mensuelles à partir des cumuls mensuels.

N° de mois	LA FOA(*)		COL D'AMIEU(*)		CANALA(*)		PONERIHOUEN		POCQUEREUX(**)	
	T°C	mm	T°C	mm	T°C	mm	T°C(*)	mm(**)	T°C	mm
	1952-98	1951-98	1959-98	1968-98	1968-98	1951-98	1966-95	1952-95	1985-97	1985-97
1	25,9	179,9	23,1	291,2	25,7	260,0	25,7	432	25,5	244
2	26,1	162,8	23,3	275,5	26,0	243,3	26	378	25,5	170
3	25,4	162,3	22,7	270,2	25,5	271,4	25,8	380	24,9	198
4	23,3	93,5	20,9	133,8	23,9	147,7	24,5	220,6	23,2	88
5	21,3	72,7	18,9	106,7	21,9	106,6	22,9	174,9	21,1	75
6	19,8	92,5	17,5	126,1	20,3	131,5	21,8	189,7	19,6	86
7	18,4	76,3	16,3	84,3	19,2	102,8	20,7	128,9	18,1	69
8	18,7	58,1	16,3	73,8	19,4	83,0	20,6	106,1	18,3	62
9	19,6	50,2	17,2	53,9	20,3	62,0	21,2	102,9	19,2	48
10	21,6	50,2	18,9	73,8	21,5	80,0	22,4	113	21,1	31
11	23,5	74,1	20,8	122,8	23,3	112,3	23,7	196	23	92
12	24,9	101,9	22,0	174,7	24,6	148,0	24,8	250,7	24,4	113
Moy/an	22,3		19,8		22,6		23,3		22,0	
Cumul/an		1072,6		1786,8		1748,6		2674,8		1276

Dans les régions des anciennes plantations, les précipitations annuelles moyennes oscillent entre 1100 mm (Côte Ouest) et 2700 mm (côte Est). Dans la chaîne, celles-ci sont sensiblement voisines de celles de la côte Est. Sur l'année, les températures mensuelles moyennes varient de 16 à 26°C. Dans la chaîne celles-ci sont toujours plus basses.

La saison sèche se situe pendant l'hiver austral. Si l'on considère le seuil de stress hydrique favorable à l'induction florale, on constate que les précipitations de saison sèche de la côte Est représentées par Ponérihouen sont excédentaires. Sur la côte Ouest, les minima de pluviométrie sont favorables aux bonnes inductions florales mais la pluviométrie est déficitaire pendant la saison humide pour la culture du café. Seul le climat de Canala sur la côte Est est propice à la caféiculture aussi bien par la hauteur que par la répartition des précipitations, et une saison sèche marquée par 2 mois sans pluie correspondant aux conditions favorables à l'inductions florale des caféiers.

Figure 1 : Climogrammes des régions à café de Nouvelle-Calédonie d'Ethiopie et de Côte d'Ivoire.



- ◆ La Foa
- col d'Amieu
- ▲ Canala
- ✕ Ponérihouen
- Pocquereux
- ✕ Ethiopia
- ⊕ Divo (C.I.)
- limite stress hydrique

La comparaison des climogrammes (figure 1) des sites néo-calédoniens avec ceux des régions d'origines des deux espèces parentes, *C. arabica* et *C. canephora*, respectivement d'Ethiopie et de Côte d'Ivoire, montre que les climats de ces sites sont intermédiaires entre les climats éthiopiens et ivoiriens. Le climat du col d'Amieu est le plus proche du climat éthiopien. En revanche, aucune des conditions climatiques rencontrées sur les côtes Est et Ouest n'est optimum aussi bien à l'*arabica* qu'au *robusta*. L'humidité excessive moyenne sur la côte Est serait une cause du dérèglement floral, provoquant des petites floraisons étalées sur toute l'année. Ces floraisons décalées provoquent des maturités pendant la saison humide favorable à la germination des graines hybrides mal formées. Celles-ci parviennent à germer et à étaler leurs premières feuilles assimilatrices avant la saison sèche.

Par ailleurs, la fraîcheur du climat pendant certains jours d'hiver (T° descendant jusqu'à 6°C) au moment de la floraison est favorable (Lanaud, 1983) à la formation de diplogamètes chez *C. canephora*. Cette formation de gamètes diploïdes chez *C. canephora* permet la fécondation réciproque entre cette espèce et *C. arabica*. Il faut noter qu'un individu tétraploïde de *C. canephora* a été observé au cours de la prospection.

Le climat humide de la Nouvelle-Calédonie et les températures relativement basses permettent donc aux deux espèces de cohabiter autorisant leurs hybridations.

c – La résistance à la rouille

La pression parasitaire, due à la rouille, favorisée par les conditions climatiques et une base génétique limitée pour le parent *arabica*, fait que pratiquement seuls survivent les hybrides résistants à cette maladie. Cependant, 6 % des hybrides collectés en 1991 et 3 % de ceux récoltés en 1996 montraient une faible sensibilité. De plus, quelques rares individus (EVA03, EVA04 et EVA05), à phénotype *canephora* mais recueillis sous un hybride triploïde dans un environnement de *canephora* résistants, sont très sensibles à la rouille. Il faut noter que la souche de rouille présente en Nouvelle-Calédonie sur *C. canephora* est différente de celle parasitant *C. arabica* (Nandris et Pellegrin, cp)

d – L'intérêt marqué par les planteurs pour les plantes hybrides

Deux sites de la région de Farino sont anormalement riches en hybrides. Sur l'un des sites ces derniers ont été plantés en touffes. Sur l'autre, les hybrides ont été plantés en ligne avec un

espacement régulier. Sur les deux sites les hybrides sont caractérisés par une fertilité dépassant celle des F1. Cette fertilité et leur aspect morphologique équilibré indiquent qu'ils descendent vraisemblablement d'hybrides fondateurs pour leur résistance à la rouille et leur vigueur.

Il apparaît donc que certains planteurs ayant reconnu les qualités exprimées par les hybrides, résistance à la rouille et vigueur, ont cherché à les utiliser pour améliorer les caféières et ce faisant les ont préservés.

Estimation du niveau de ploïdie par cytométrie de flux

Les hybrides adultes naturels de Nouvelle-Calédonie (HNC) comprennent a priori des hybrides triploïdes, des hybrides tétraploïdes et leurs descendances libres sur une ou plusieurs générations. Leur niveau de ploïdie a été estimé par cytométrie de flux selon la technique de Barre (1997). Les noyaux sont obtenus par hachage à la lame de rasoir de tissu foliaire (Galbraith et al., 1983) dans du tampon de Dolezel (Dolezel et al., 1989). L'ADN des noyaux est ensuite coloré par un fluorochrome intercalant, l'iodure de propidium, spécifique des bases nucléiques A-T ou C-G. L'intensité du signal recueilli par le cytomètre est proportionnelle à la quantité d'ADN marqué. En principe, un témoin de quantité d'ADN nucléaire connu (QT) est haché en présence de l'échantillon. La quantité d'ADN nucléaire de l'échantillon est alors estimée selon la formule : quantité d'ADN = (fluorescence de l'échantillon / fluorescence du témoin) x QT.

Pour éviter certaines interactions (Noirot, comm. pers.), nous avons opté pour l'utilisation de billes fluorescentes (2 µm Polysciences) dont la fluorescence a été préalablement comparée avec celle des noyaux de pétunia (2C=2.85pg). Les mesures ont été effectuées à l'INSERM de Montpellier avec un appareil FACscan de Becton Dickinson).

Résultats

Les témoins

La taille du génome de *C. canephora* a été estimée par Cros et al. (1993) à 1,46 pg et celle de *C. arabica* à 2,47 pg. Dans ces conditions, la valeur attendue de l'arabusta serait de 2,7 pg – soit un peu plus que l'arabica, et celle de l'hybride triploïde d'environ 2 pg.

La figure 2 représente les fluorescences observées au cytomètre. Les noyaux diploïdes *C. canephora* à 22 chromosomes montrent une fluorescence comprise essentiellement entre 350 et 400 unités de cytomètre (fig. 2-c). Les noyaux tétraploïdes – *C. arabica* et arabusta avec 44 chromosomes - sont sensiblement deux fois plus fluorescents (700 à 800), avec cependant des valeurs légèrement supérieures pour les arabusta. Ces résultats sont en accord avec les résultats déjà publiés (Cros et al., 1993).

Les hybrides naturels

Les hybrides naturels sont comme attendus très variables pour leur niveau de ploïdie. Celui-ci présente une distribution bimodale (Fig. 2-A et 2-B). Le mode situé à gauche représente les 3/5 environ des effectifs totaux). Avec une taille de génome intermédiaire entre celles des espèces parentales, ce mode correspond aux hybrides triploïdes et à certains de leurs backcross. Le mode situé à droite est composé des hybrides dont la taille du génome est proche de celle des témoins *C. arabica* et arabusta. Ces hybrides sont, a priori, des types Arabusta ou des rétrocroisements plus ou moins équilibrés sur *C. arabica*.

Les plantes à grande taille de génome (FL2-A>800) correspondraient à des hybrides 5x, 6x, ou plus. Ils peuvent être générés, par exemple, à partir de gamètes non-réduits dont l'induction est favorisée par le froid au moment de la méiose (Lanaud, 1983). L'apparition de ces hybrides dans les plantations abandonnées est une nouvelle source de diversification des hybrides en particulier avec les polyploïdes équilibrés 6x qui ont des fertilités (mâle et femelle) moyennes équivalentes ou supérieures à celles de l'arabusta (Le Pierrès, 1995).

Sur l'histogramme de la prospection 1996 (fig.1-B), des tailles de génome proche du niveau attendu chez *C. canephora* ont aussi été observées. La précision des mesures en CMF sur le caféier est cependant insuffisante pour déterminer exactement le nombre de chromosomes. Quelques hybrides appartenant à ces classes ont montré par cytologie des nombres chromosomiques variant de plus de 22 à 33, tandis que les observations morphologiques en pépinière sont en faveur de leur nature hybride. Chez les hybrides aneuploïdes (22 à 33 chromosomes), les chromosomes supplémentaires proviennent très probablement de *C. arabica*. La restauration de l'équilibre chromosomique de ces formes introgressées est possible avec les méthodes connues appliquées aux lignées d'addition et aux lignées de substitution chez les polyploïdes (Charrier et Bernard, 1981 ; Cauderon, 1988). Les études peuvent alors être orientées vers la reconnaissance du ou des chromosomes supplémentaires. Dans le groupe des plantes à 22 chromosomes, il devient difficile de montrer la présence d'introgression, sauf à vérifier par biologie moléculaire la présence de gènes ou fragments de chromosomes provenant de la composante du génome de *C. arabica* proche de *C. eugenioides*.

Le biais introduit par les pertes lors du sauvetage des hybrides prospectés par bouturage

Les distributions d'effectifs des deux prospections (fig.2-A et 2-B) présentent des allures différentes : la prospection de 1996 (B) est plus étalée que la prospection de 1991 (A). Les pertes au sauvetage en pépinière lors de la première prospection (A) n'affecterait pas de manière aléatoire le matériel prospecté. Les classes extrêmes auraient disparues plus ou moins complètement. De même, on constate une diminution significative de la classe d'hybrides tétraploïdes ayant une taille de génome proche de l'arabica. Les individus de la 2^{ème} prospection (B) sont plus représentatifs de la population d'hybrides apparus spontanément et soumis seulement à la sélection naturelle.

Les variations de niveau de ploïdie dans les descendance d'HNC

Un hybride tétraploïde relativement fertile (coefficient de remplissage = 1,3 graines/fruit) a donné, par fécondation libre, 2 lots de graines caractérisées par leur flottabilité. Chaque lot a été semé séparément. Les graines non flottantes (90% des graines) ont produit plusieurs centaines de jeunes plants d'allure homogène en pépinière. Un échantillon de 10 plants tirées au hasard a montré une taille de génome homogène équivalente à celle d'un tétraploïde et sans différence significative avec le pied-mère. A l'inverse, les graines flottantes ont donné 55 jeunes plants très hétérogènes pour leur morphologie et la taille de leur génome présentée sur la figure 3-B. La plupart d'entre eux seraient des triploïdes, les autres (onze hybrides) étant tétraploïdes.

Un hybride triploïde DOG84, qui est un des plus vieux hybrides du territoire, est *in situ* entouré de *C. canephora* et de *C. arabica*. Deux descendance ont été étudiées. La première est formée de jeunes plants de type hybride récoltés sur place sous l'hybride (Fig. 3-E), la seconde provient du semis des graines d'une récolte effectuée en avril 97 sur ce même hybride (Fig. 3-F).

La distribution des tailles de génome observée sur la descendance *in situ* ressemble à celle de la fig. 2-B relative aux hybrides prospectés. Cette distribution reflète la variabilité des tailles de génome des gamètes femelles. La majorité des descendants est aneuploïde. L'étalement des tailles de génome confirme cependant la grande irrégularité méiotique des triploïdes. Les descendants à petit génome pourraient provenir de rétrocroisements avec *C. canephora*. A l'opposé, les quelques individus à grand génome seraient issus de la fécondation de gamètes non-réduits ovulaires par du pollen *C. arabica* pour donner des pentaploïdes.

Figure 2 : Distribution de la quantité d'ADN nucléaire (qADN) chez les hybrides naturels *C. arabica* x *C. canephora* issus des prospections de 1991 (A) et de 1996 (B) ;

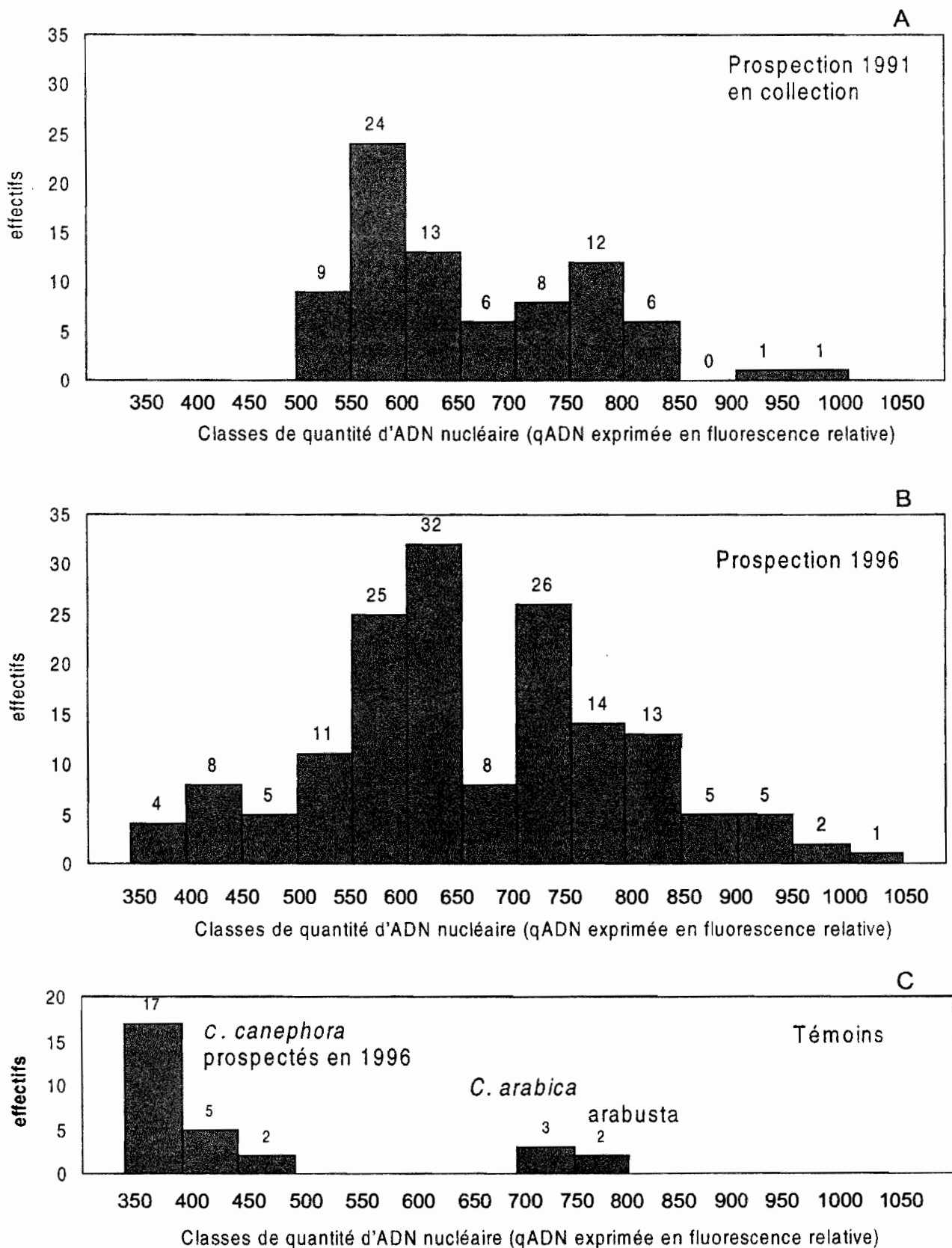
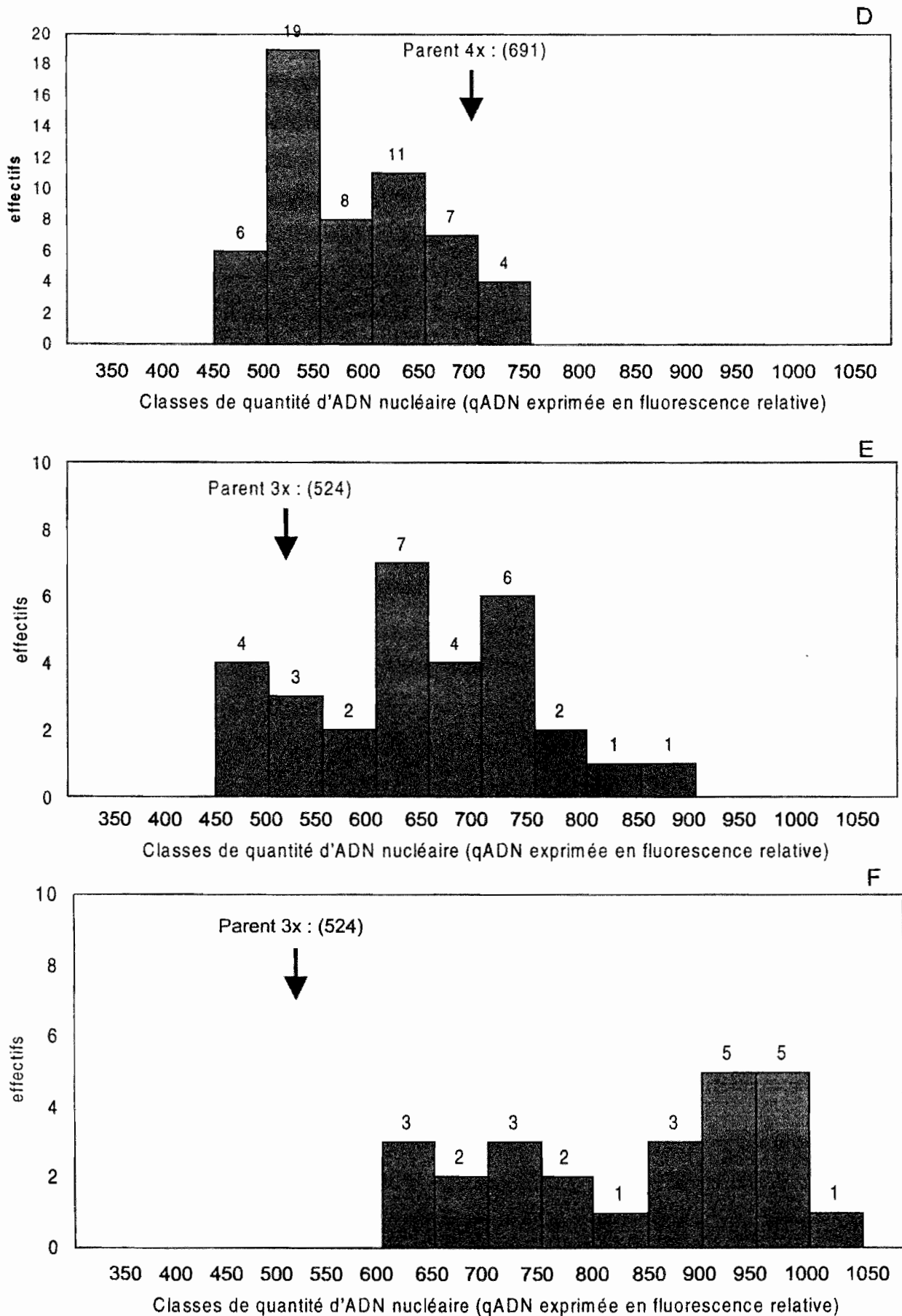


Figure 3 : Les quantités d'ADN nucléaires (qADN) dans trois descendance d'HNC

A : descendance d'un hybride tétraploïde ; B et C descendance du même hybride 3x



Par rapport à la descendance précédente, la distribution de la descendance issue de la récolte d'avril 1997 montre plus de plants à grand génome et qui pourraient correspondre à des hybrides 4x, 5x, 6x et à leurs intermédiaires aneuploïdes. Il est étonnant de constater que la majorité des gamètes de ce triploïde et qui ont donné des descendants après fécondation soient en majorité non-réduits. Il faut noter que les températures nocturnes sont descendues jusqu'à 4 °C dans les jours précédents la floraison à l'origine de cette descendance hybride. Le phénomène de froid pendant les méioses permet donc d'améliorer significativement les capacités reproductrices des triploïdes et contribue largement à l'évolution des HNC à travers leurs descendance. Si l'on se rapporte aux études de Veilleux (1985), deux types de mécanismes de formation de gamètes 3n sont à envisager dans notre exemple pour expliquer la variabilité des 6x :

- par FDR (first division restitution) donnant des gamètes homozygotes hétérogènes ;
- par SDR (second division restitution) conduisant à des gamètes hétérozygotes homogènes identiques à celle du parent hexaploïde.

Il existerait donc chez les triploïdes des anomalies méiotiques lors de la formation de triplogamètes, notamment par FDR. Ce dernier accroît la variabilité des HNC en diversifiant les combinaisons génétiques des polyploïdes, tandis que le premier reproduit des formes isogéniques hexaploïdes aussi fécondes que les arabusta.

Discussion

L'interprétation des niveaux de ploïdie des populations d'hybrides permet d'apporter des informations biologiques importantes sur la nature et sur l'évolution du matériel vue au travers du rôle des flux de gènes entre l'espèce 4x *C. arabica* et l'espèce 2x *C. canephora*.

- Les deux compartiments 3x et 4x participent aux flux de gènes entre les deux espèces parentes. Ce flux de gènes est majoritairement asymétrique en créant essentiellement des formes 4x à cytoplasme *C. arabica*. Au plan reproductif, les triploïdes sont nettement plus stériles que les hybrides 4x aux gamètes mâles et femelles fonctionnels. La formation de rares diploïdes introgressés par *C. arabica* reste à vérifier.
- Les hybrides 4x de type "arabusta" sont moins fréquents que les triploïdes, mais sont plus fertiles. Néanmoins, la faible fertilité des triploïdes est compensée par le nombre d'hybrides créés. De plus, leur fertilité est améliorée par la production de triplogamètes

induits par le froid. Au bilan, l'efficiencia des F1 3x originels, plus nombreux au départ serait au moins égale ou supérieure à celle des tétraploïdes dans l'évolution ultérieure des HNC.

- Les méioses déséquilibrées des hybrides et de leurs descendances non stabilisées devraient générer une richesse considérable de combinaisons génétiques à soumettre à la sélection naturelle. Parmi celles-ci, quelques génotypes parfaitement équilibrés participeront à l'évolution du groupe hybride. D'un point de vue pratique, le test de flottabilité des fruits permet un tri efficace des génotypes équilibrés dans une descendance d'hybride F1 tétraploïde.
- Le nouvel habitat néo-calédonien d'espèces de caféiers abandonnés, plantées en mélange, favorise une installation à multiplication exponentielle d'hybrides naturels qui participent activement à la création de nouvelles formes de caféiers polyploïdes mieux adaptés au milieu (caféiers 4x résistants à fertilité restaurée). Parallèlement, ce milieu sert de "filtre biologique" en contre-sélectionnant la participation reproductive des génotypes déséquilibrés, sensibles, peu vigoureux et stériles.
- Sur le plan pratique, les plantes les plus équilibrées appartiennent à la classe des tétraploïdes. Il s'agit de 34 hybrides, soit environ 10% des plantes prospectées. Ces génotypes ne sont pas aptes à la culture directement. Toutefois, leur utilisation comme géniteurs pour l'amélioration de *C. arabica* doit être considérée. Leur liste est donnée en annexe II.

Analyse moléculaire (AFLP) des hybrides de Nouvelle-Calédonie

En complément des études cytologiques et des observations agro-morphologiques, des hybrides de Nouvelle-Calédonie ont été étudiés au niveau moléculaire. Des marqueurs génétiques de l'ADN ont été produits par la technique AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). Cette technique (Vos et al., 1995) permet de générer un grand nombre de marqueurs moléculaires et a été décrite comme particulièrement adaptée à l'étude des introgressions chez *C. arabica* (Lashermes et al. 1996). L'étude du polymorphisme de l'ADN de différents HNC a pour principaux objectifs de : i) confirmer l'origine « hybride interspécifique » du matériel prospecté ; ii) évaluer la diversité génétique que représente ces hybrides ; et iii) estimer le niveau d'introgression.

Le matériel analysé par AFLP (tableau 5) comprend un échantillon de 16 hybrides tétraploïdes de Nouvelle-Calédonie comparés à 4 témoins.

Tableau 5 : Liste des génotypes étudiés par AFLP

N°	Nom des génotypes	Nature du matériel
1	SZE02	Hybrides naturels
2	TEN51	"
3	FRI15	"
4	NEG02	"
5	HAO27	"
6	FRI02	"
7	FRI08	"
8	POT09	"
9	KON57	"
10	DOG73	"
11	FRI13	"
12	KON36	"
13	POT06	"
14	NY07	"
15	FAR01	"
16	GUE05	"
17	Var. typica	<i>C. arabica</i>
18	Var. bourbon	<i>C. arabica</i>
19	IF200	<i>C. canephora</i>
20	Hybride de Timor	

Tous ces échantillons présentent une quantité d'ADN nucléaire, évaluée par cytométrie de flux, équivalente à celle de l'espèce *C. arabica*, 2 géotypes de *C. arabica* représentant les deux principaux types de variétés (*typica* et *bourbon*), 1 descendant de l'hybride de Timor (i.e. hybride interspécifique spontané entre *C. arabica* et *C. canephora*) et 1 clone de *C. canephora*.

L'extraction de l'ADN a été effectuée à l'IRD de Nouméa suivant la technique appliquée à l'IRD de Montpellier (ORSTOM, 1995). Les différentes étapes de la technique AFLP, le marquage et l'électrophorèse des produits d'amplification ont été réalisés à l'IRD de Montpellier suivant la technique de Vos et al. (1995). L'analyse AFLP de l'ensemble des accessions sélectionnées et des témoins a été réalisée pour trois combinaisons d'amorces. Il s'agit des combinaisons A : E-ACA/M-CAT, B : E-ACT/M-CAA, et C : E-ACT/M-CTT, dans lesquelles E et M figurent la partie constante des amorces associées, respectivement, aux adaptateurs *EcoRI* et *MseI*.

Pour la totalité des marqueurs polymorphes au sein du matériel végétal étudié, et pour chaque géotype analysé, la présence ou l'absence du produit d'amplification a été notée.

Résultats et Discussion

Un total de 91 marqueurs a été obtenu entre les 20 échantillons inclus dans cette étude. Les couples d'amorces A, B, et C ont généré respectivement 27, 29 et 35 marqueurs. Les figures, 4, 5 et 6 présentent les relevés de présence/absence de marqueurs AFLP respectivement obtenus avec les trois systèmes d'amorces.

Interprétation du polymorphisme

Différents groupes de marqueurs peuvent être distingués en relation avec l'origine du polymorphisme (*C. arabica* versus *C. canephora*) et le processus d'introgession:

- Marqueurs « canephora » : 25 marqueurs (19 « présence » et 6 « absence ») apparaissent spécifique du clone IF200 de *C. canephora* (i.e. présence ou absence uniquement chez IF200) ;
- Marqueurs « arabica » : 4 marqueurs correspondent à un polymorphisme entre variétés de *C. arabica* ;

Figure 4 : Marqueurs AFLP répertoriés (27) avec le système d'amorces A

bande	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	TOT
A055	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
A074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
A085	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
A090	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
A092	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
A093	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
A100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18
A107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
A108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
A116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15
A118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18
A145	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
A148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17
A149	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
A164	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
A170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
A172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
A188	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
A190	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
A207	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
A216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
A232	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
A235	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
A255	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
A273	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
A295	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
A316	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
SOM	15	14	14	19	15	16	14	15	12	13	14	15	14	13	12	11	9	11	11	9	266

Figure 5 : Marqueurs AFLP répertoriés (29) avec le système d'amorces B

bande	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	TOT	
B070	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B071	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
B078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B088	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
B090	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
B095	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
B099	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
B106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
B107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B147	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
B150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B155	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11
B172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B175	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B185	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
B188	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B191	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
B192	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
B206	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17
B210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
B220	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
B237	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
B255	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B279	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
B280	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B290	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18
B298	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B315	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
B316	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18
SOM	16	17	19	17	19	18	17	16	18	16	18	16	17	14	14	15	14	13	10	15	319	

Figure 6 : Marqueurs AFLP répertoriés (35) avec le système d'amorces C

bande	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	TOT
C060	-	-	-	-	-	-	-	.	.	-	-	8
C063	-	-	1
C067	-	1
C070	-	-	.	1
C080	-	-	1
C081	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
C085	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14
C092	-	.	-	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	.	7
C106	-	-	1
C118	-	-	.	-	.	.	-	-	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
C124	-	.	-	-	-	.	.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
C130	-	-	1
C143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
C145	-	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
C152	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
C170	.	-	.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
C172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
C173	.	-	-	-	-	-	-	-	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
C179	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
C180	-	-	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
C182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18
C190	-	-	.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
C191	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12
C195	.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11
C203	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
C210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
C220	-	-	1
C225	-	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15
C249	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
C250	.	.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
C271	.	.	.	-	.	.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
C288	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11
C308	-	-	1
C323	-	.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
C330	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18
SOM	17	17	16	19	19	14	15	16	13	12	18	13	14	14	14	10	7	6	16	9	279

- Marqueurs d'introgression 53 marqueurs présents chez certains hybrides de Nouvelle-Calédonie et/ou le descendant de l'hybride de Timor correspondent à des marqueurs d'introgression (i.e. marqueurs jamais observés au sein des variétés de *C. arabica*). Parmi ces 53 marqueurs, 28 sont aussi observés chez le clone IF200 de *C. canephora*. Etant donné l'important polymorphisme existant au sein des clones de *C. canephora* présents en Nouvelle-Calédonie, une origine « *C. canephora* » pour la plupart de ces marqueurs introgressés apparaît extrêmement probable.
- Marqueurs « associés à l'introgression » : 9 marqueurs, toujours présents chez *C. arabica* et absent chez le clone IF200, sont parfois absents chez des hybrides de Nouvelle-Calédonie ou le descendant de l'hybride de Timor. Ces marqueurs ne sont pas des marqueurs d'introgression *per se* mais peuvent être considérés comme des marqueurs associés au processus d'introgression. Ils traduisent probablement le(s) remplacement(s) d'un fragment chromosomique de *C. arabica* par un fragment de *C. canephora* au sein du génotype introgressé.

Estimation du niveau d'introgression au sein des hybrides de Nouvelle-Calédonie

Le nombre de marqueurs d'introgression par génotype analysé est présenté dans le tableau 6. Toutes les accessions analysées présentent des marqueurs d'introgression. Ces génotypes ont donc bien pour origine une hybridation interspécifique. Par ailleurs, on observe une variation importante (10 à 24) pour le nombre de marqueurs d'introgression (moyenne de 16,7). Cependant, tous les hybrides de Nouvelle-Calédonie présentent un nombre de marqueurs d'introgression au moins égal à celui du descendant de l'hybride de Timor.

Le clone IF200 de *C. canephora* se distingue des variétés de *C. arabica* par 34 marqueurs. En admettant que 30% des marqueurs observés chez IF200 sont hétérozygotes (Lashermes cp), et que les marqueurs AFLP sont aléatoirement répartis sur l'ensemble du génome, on peut estimer la proportion de génome de *C. canephora* que représentent les marqueurs d'introgression identifiés (Tableau 6). Comme on ne retrouve pas l'ensemble des marqueurs *canephora* dans aucun des hybrides analysés, tous semblent correspondre à des descendance d'hybride F1.

Tableau 6 : Dénombrement des marqueurs d'introgression au sein des hybrides de NC

N° Echantillon	Marqueurs d'introgression	Estimation de la proportion du génome de <i>C. canephora</i> que représentent les marqueurs introgressés (%)
1	19	66
2	21	72
3	20	69
4	24	83
5	24	83
6	18	62
7	17	59
8	17	59
9	14	48
10	10	34
11	20	69
12	13	45
13	16	55
14	13	45
15	11	38
16	11	38
hybride de Timor	10	34

La Technique AFLP apparaît particulièrement adaptée à l'étude des hybrides de Nouvelle-Calédonie. L'origine interspécifique de tous les hybrides étudiés est clairement démontrée. Ces hybrides représentent une diversité génétique considérable en comparaison du très faible polymorphisme observé entre variétés de *C. arabica*. Bien qu'extrêmement variable, le niveau d'introgression de ces hybrides semble toutefois constituer un frein à leur valorisation directe.

Conclusion générale

Au cours des prospections réalisées environ 400 hybrides ont été collectés. Ces prospections ont permis de déterminer une zone d'hybridation intense située au centre de la Nouvelle-Calédonie et comprise entre Canala, Touho, Poya et La Foa.

La combinaison de cinq facteurs principaux semble favoriser la formation de ces hybrides, ce sont :

- la culture en mélange de *C. arabica* et *C. canephora* ;
- l'abandon depuis des décennies des plantations ; il a rendu possible l'installation et le développement des semis naturels ;
- l'humidité permanente qui autorise la germination des graines triploïdes déficientes en albumen et le développement des plantules issues de ces graines ;
- les basses températures ; elles accroissent la restauration de la fertilité des hybrides en induisant la formation de gamètes non-réduits ;
- l'absence de saison sèche marquée qui entraîne des floraisons étalées et simultanées des deux espèces.

Les observations sur le terrain, les analyses en cytométrie de flux et l'analyse moléculaire indiquent une très importante diversité des hybrides produits. Toutes les combinaisons génétiques allant de la diploïdie à l'hexaploïdie sont présentes. Les populations d'hybrides sont en train d'évoluer par autofécondation, rétrocroisement avec les espèces parentes et intercroisement entre les hybrides. Ce processus accroît très fortement la diversité génétique d'origine. De plus, sont ainsi créées les conditions de formation d'un site secondaire de diversification pour l'*arabica*. Cependant, au cours de leur établissement ces populations ont été soumises aux contraintes présentes dans l'environnement néo-calédonien. Elles ont donc subi une pression de sélection. Seuls les individus les mieux adaptés aux contraintes physiques et biologiques, en particulier à la rouille, ont survécu et participent à leur évolution.

Les hybrides les plus intéressants pour une éventuelle valorisation sont les formes tétraploïdes du fait de leur fertilité qui accroît les possibilités de les croiser avec l'*arabica*. Cependant, les niveaux d'introgession du génome *canephora* dans ces hybrides restent très élevés ; ils

conservent encore entre 30 et 80 % de ce génome. De ce fait, ils ne sont pas directement utilisables en plantation et n'ont d'intérêt que pour des programmes d'amélioration de l'arabica. Ces hybrides étant résistants aux races locales de rouille et adaptés aux contraintes physiques imposées par l'environnement néo-calédonien, il est envisageable de les utiliser, dans des schémas d'amélioration d'arabica adapté à cet environnement et ayant pour objectif, à moyen ou long terme, le transfert de cette résistance.

Jusqu'à la découverte des HNC, la seule source disponible pour le transfert de la résistance à la rouille était l'hybride de Timor. Les HNC élargissent donc considérablement le pool génétique utilisable pour le transfert de cette résistance aux arabica cultivés de Nouvelle-Calédonie. En l'absence d'information sur le comportement de ces hybrides vis-à-vis de contraintes biotiques et abiotiques prévalant dans d'autres zones de caféiculture (Amérique latine, Asie, Afrique,...), il est actuellement impossible de prévoir leur intérêt pour ces zones. Pour déterminer la valeur des HNC pour la caféiculture mondiale, il serait nécessaire de les confronter aux contraintes existantes dans ces autres zones et en particulier aux différentes souches de rouille, au *Colletotrichum* des baies ou aux nématodes. Il serait aussi souhaitable d'évaluer dans des environnements très divers les caractères leur conférant une bonne vigueur. Nos connaissances de leur diversité génétique devraient aussi être approfondies afin de déterminer parmi les HNC tétraploïdes ceux qui présentent le plus grand intérêt.

Références bibliographiques

- BARRE Ph., 1997 - Les transferts de gènes entre espèces de caféiers diploïdes : Etude des hybrides F1 et BC1 entre *C. pseudozanguebariae* Bridson et *C. liberica* Bull ex. Hiern (*C. deveurei* De Wild et Th.Dur). Thèse de doctorat, ENSA de Montpellier, 117 pages et 5 annexes.
- CAMBRONY H.R., 1966 - La caféiculture sur la Côte Est de Nouvelle-Calédonie, I. - Solutions proposées pour l'amélioration des conditions de production par H.R. Cambrony extraits pp 13 - 14, de IFCC, nov-déc 1966,
- CAPOT J., 1972 - L'amélioration du caféier en Côte d'Ivoire. Les hybrides arabusta. Café Cacao Thé (Paris), 16, 3-18.
- CAPOT J., DUPAUTEX B., DURANDEAU A., 1968 - L'amélioration du caféier en Côte d'Ivoire. Duplication chromosomique et hybridation. Café Cacao Thé (Paris), 12, 114-126.
- CAUDERON Y., 1988 - Hybridation entre blés et Agropyron. Bases cytogénétiques de l'évaluation des Agropyron et des transferts de gènes aux blés, C. R. Acad. Agric.Fr., 74(8), 79-90.
- CHARMETANT P., LE PIERRES D., 1991 - Rapport de mission en Nouvelle-Calédonie : prospection et collecte d'hybrides naturels de caféiers cultivés. Multigr. IRCC/CIRAD - ORSTOM, 25 pages.
- CHARRIER A., BERNARD M., 1981 - Hybridation interspécifique et amélioration des plantes. III.- Amphiploïdes et formes introgressives. Acad. d'Agri. de Fr., extrait du P.V. de la séance du 17 juin 1981, 1025-1040.
- CROS J., 1994 - Implications phylogénétiques des variations de l'ADN chloroplastique chez les caféiers. Thèse de doctorat, Univ. de Montpellier II Sc. et Tech. du Languedoc, 135 pages, 8 annexes.

- DOLEZEL J.P., BINAROVA P., LUCRETTI S., 1989 - Analysis of nuclear DNA content in plants cells by flow cytometry. *Biology Plantarum* (Prahia), 31, 113-120.
- GALBRAITH D.W., HARKINS K.R., MADOX J.M., AYRES N.M., SHARMA D.P., FIROOZABADY E., 1983 - Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science*, 220, 1049-1051.
- LANAUD C., 1983 - Phénomènes de non-réduction provoqués par le froid au cours de la microsporogénèse du caféier. Café Cacao Thé (Paris), 27, 259-270.
- LASHERMES Ph., COMBES M.C., TROUSLOT P., ANTHONY F., CHARRIER A., 1996 - Molecular analysis of the origin and genetic diversity of *Coffea arabica* L. : implications for coffee improvement. *Euphytica*, 87, 23-9.
- LE PIERRES D., 1995 - Etude des hybrides interspécifiques tétraploïdes de première génération entre *Coffea arabica* L. et les caféiers diploïdes. Thèse doctorat, Univ. d'Orsay (Paris XI), 298 pages.
- ORSTOM, 1995. Formation permanente de l'ORSTOM CS4, LRGAPT et Phytopathologie. Stage d'initiation à l'utilisation des marqueurs moléculaires (Montpellier 11-22 septembre 1995), manuel de travaux pratiques 28 pages.
- VEILLEUX J., 1985 - Diploid and polyploid gametes in crop plants : mechanisms of formation and utilization in plant breeding. *Theor. Appl. Genet*, 59 : 95-100.
- VOS P., HOGERS R., BLEEKER M., REIJANS M., VAN DE LEE T., HORNES M., FRIJTERS A., POT J., PELEMAN J., KUIPER M., ZABEAU M. - 1995. AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, vol.23, N°21, 4407 - 4414.

Remerciements

Cette étude n'aurait pu aboutir sans l'appui de M. Michel DESVALS Directeur de la Direction du Développement Rural de la province Sud, et la participation active de ses collaborateurs : Mlle Isabelle CAPART, MM. Robert ARRIGHI, Jacques BEAUJEU, Georges DONSKOFF Jean-Claude NEMOUARE et André RIDE.

Mes remerciements s'adressent aussi à M. Auguste ATE, Petit Chef tribu Konoyes, et à M. Gilbert KASOVIMOIN de la mairie de Canala, qui ont activement contribué aux prospections

Je remercie pour leur concours les planteurs et leurs familles, tout spécialement M. Louis SOURY-LAVERGNE, M. Guy BELLIER, M. FRIQUET et M. DELCUIGNE qui m'ont donné les informations et les autorisations nécessaires pour me rendre dans les caféières et y effectuer les prélèvements.

Je suis très reconnaissant à MM. François MADEMBA-SY et Zacharie LEMERRE de la Station CIRAD de Pocquereux pour les facilités de travail qu'ils ont mis à ma disposition. Du CIRAD, je remercie également M. Patrick JAGORET pour son aide lors des prospections.

Ma reconnaissance va également à tous mes collègues du Centre I.R.D. de Nouméa : Mme Lydia BONNET DE LARBOGNE, Mlle Jeannette HENRI, et MM. Franz KOHLER, Philippe JOURAND, Claude MARCILLAUD, Daniel NANDRIS, Frédéric PELLEGRIN, Gérard RINAUDO et Bernard RIO pour leur soutien technique et scientifique.

Enfin, ces travaux doivent beaucoup à mes collègues du centre IRD de Montpellier, en particulier Philippe LASHERMES et Michel NOIROT pour leurs contributions aux analyses moléculaires et, Jean-Claude PROT (responsable du programme Biodiversité et Agriculture) pour l'interprétation des résultats et la finalisation de ce rapport.

ANNEXE I

Liste des hybrides naturels de caféiers prospectés en 1996

Liste des hybrides naturels de caféiers prospectés en 1996

A - Prospections du 28, 29 et 30 mai 1996

- **SARRAMEA** (symbole SAR). Anciennes plantations plus ou moins régénérées avant le village du côté de la rivière Sarraméa. Les hybrides sont trouvés dans les creeks ou sur leurs bords, aux endroits non entretenus abandonnés. Des plantations nouvelles ou régénérées bordent ces zones. La composition des canephora est variée. Les arabica semblent typica. Quatre génotypes sont prélevés sur des vieux arbres.

SAR11, SAR12, SAR13 et SAR14

- **KONOE** (symbole KON). Plantation de Auguste ATE sur le même site prospecté en 1991 (Konoyes) où 16 hybrides avaient été collectés. Cette plantation, impénétrable, sans aucune trace de vestige de ligne, contient de nombreux hybrides fondateurs et leurs descendances. Les espèces parentes sont en mélange, en proportion équivalente, composées de représentants de tout âge allant du vieil adulte de plus de 50 ans à la jeune plantule. Cette plantation stabilisée dans un état d'équilibre entre les arbres reproductifs semble durable par la quantité des jeunes arbres qui prennent progressivement la relève de la reproduction. A terme, la participation croissante des générations d'hybrides reproductifs créés devrait avoir une influence sur la composition de cette population mixte tout en favorisant la proportion des formes hybrides. Plusieurs prélèvements sont effectués.

N° 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 (le KON25 prélevé sous le KON07)

prélèvements d'espèces parentes : 14 *C. canephora* voisins du KON24 ; 1 *C. canephora* entre KON22 et KON23 ; 1 *C. canephora* entre KON07 et KON03 ; plusieurs *C. arabica* typica proche du KON24.

22 semenceaux prélevés sous le KON07 (entre le KON 2 et le KON07) ont été numérotés de KON36 à KON57.

Les KON58, 59 et 60 correspondent à des jeunes semis prélevés sous le KON03.

- **OUEROUPIME** (symbole OUE) Cette une mosaïque de reliquats de plantations bordant le village. L'équilibre entre arabica et robusta semble avoir été privilégiée artificiellement par une taille identique des deux espèces en parasol qui semble plus bénéfique à l'arabica qu'au

robusta. Parmi les arabica existent quelques pieds Le Roy. Les prélèvements d'hybrides intéressent 3 plantations.

Dans la 1ère plantation : OUE 11 ; OUE 12 ; OUE 13 ;

Dans la 2ème plantation : OUE 14 ; OUE 15 ; OUE 16 ; OUE 17 (réaction d'hypersensibilité à la rouille) ; semis et graines d'arabica Le Roy

Dans la 3ème plantation à ½H du village : OUE 18 ; OUE 19 ; OUE 20 ; OUE 21 ; OUE 22 ; OUE 23 Canephora tétraploïde (feuille large) ; 1 arabica ne présentant pas de rouille visible

- **KOH (symbole KOH)** sur des flancs de creeks bordant la route de Canala/La Foa en face du village Koh. Trois génotypes sont collectés : KOH01 ; KOH02 ; KOH03.

- **COL VERT (symbole COL)**. Sur les flancs d'un creek de la route Canala/La Foa. Cette plantation semble être un réservoir de bois de case dont les caféiers sont préférentiellement coupés (comme un recépage) dans la partie la plus accessible. Dans cette partie, il y a peu d'arabica. Des semenceaux d'allure hybride (à confirmer) ont été collectés sur le pourtour de la zone coupée à proximité de vieux arabica fructifères.

Prélèvement de 6 semenceaux : COL01 ; COL02 ; COL03 ; COL04 ; COL05 ; COL06.

B - Prospections du 2 juillet au 13 juillet 1996

Vallée de LA FOA

- **Rive droite de la rivière de La Foa avant et après le confluent de la rivière Dogny** (symbole DOG)

Le site très étendu le long de l'ancienne route de Canala passant par Koindé comprend une succession de très vieilles plantations des deux côtés de la route. Ces plantations abandonnées depuis 20 ou 30 ans sont dans un bon état de conservation sans activité humaine ni présence de bétail. Les *C. canephora* présents sont très variés et luxuriants. Les pieds de *C. arabica* à dominante typica sont tous sensibles à la rouille. Présentant parfois de belles productions, ils démontrent ainsi un peu partout la persistance de leur capacité reproductive dans la création d'hybrides et de rétrocroisements.

DOG01 ; DOG02 ; DOG03 (grand arbre) ; DOG04 ; DOG05 ; DOG06 ; DOG07 ; DOG08 ; DOG09 (avec quelques taches de rouille) ; DOG10 ; DOG11 ; DOG12 ; DOG13 ; DOG14 ;

DOG15 ; *DOG16* à 33 (*jeunes plants non certifiés hybrides sous le DOG03*) ; *DOG34* ; *DOG35* ; DOG36 ; DOG37 ; *DOG38* ; DOG39 ; DOG40 ; DOG41 (DOG34 à 41 sont des jeunes plants non certifiés hybrides sous un arabica) ; DOG42 (porte 28 fruits avec graines à semer) ; DOG43 ; DOG44 ; DOG45 (jeune plant indéterminé type arabusta- sous un arabica) ; DOG46 (sous un robusta, 10 fruits avec graines à semer) ; DOG47 ; DOG48 ; DOG49 ; DOG50 (porteur de fruits avec graines à semer) ; DOG51 (porteur de fruits avec graines à semer) ; DOG52 ; DOG53 ; DOG54 ; DOG55 ; DOG56 ; DOG57 ; DOG58 ; DOG59 (DOG53 à 59 descendants du DOG52) ; DOG60 ; DOG61 ; DOG62 ; DOG63 (cauliflore avec fruits) ; DOG64 ; DOG65 (avec des grandes feuilles, type 4x semi-fertile avec quelques fruits verts) ; DOG66 ; DOG67 ; DOG68 (type 3x adulte avec quelques fruits verts) ; DOG70 ; DOG71 ; DOG72 ; DOG73 ; DOG74 (DOG73 et 74 jeunes plants sous le DOG68) ; *DOG75* ; DOG76 ; DOG77 ; *DOG78* ; DOG79 ; DOG80 ; DOG81 ; *DOG82* ; *DOG83*.

-Rive gauche de La Foa au lieudit de la "plantation Pierrat" (symbole PIE)

Le site est placé en zone inondable entre les confluent du Fö Pere et du Fö Pe Oui. Les anciennes plantations sont partiellement aménagées en pâture et cultures. Les caféiers occupent de longues bandes poussant sous ombrages denses. Les caféiers sont presque exclusivement robusta.

PIE01 (type robusta, gros rameaux avec fruits) ; *PIE02* (robusta?) ; *PIE03* (robusta?) , *PIE04* (hybride 3x ?), *PIE5* (grande feuille, robusta ?).

Région de CANALA

Kwé Mwa : petite plantation sur les flancs du creek Apollo

KWE01 ; KWE02 (sensibilité rouille ?).

Poronu : dans une petite plantation

POR01 ; POR02 ; POR03.

Awili : petite plantation sur les flancs d'un petit creek proche du carrefour Canala/Sarraméa/Kouaoua

AWI01.

Méhoué : Petit îlot de vieille plantation bordée par des cultures abandonnées ou de caféières plus récentes, elles aussi abandonnées.

MEH01 (petit plant sous robusta).

Négropo : Proche de la localité un pied hybride entouré de plusieurs de ses descendants présumés a été trouvé dans une plantation partiellement reconvertie en cultures vivrières

NEG01 (4x, présumé hybride avec Leroy, parent des suivants) ; NEG02 (grand), NEG03 (grand), NEG04 (grand), NEG05 (1plant), NEG06 (1plant), NEG07 (1plant).

Haouli (ou Xê Uri) : Au bord de la route face au village Haouli dans des plantations du versant de la rive droite de la rivière Négropo.

HAO01 (grand pied avec fruits ; HAO02 à HAO18 (pieds sous le HAO1) ; HAO19 (avec fruits) ; HAO20, HAO21 (plants sous le HAO20) ; HAO22 (plants sous le HAO20) ; HAO23 ; HAO24 ; HAO25 ; HAO26 ; HAO27.

Tarade : chez un planteur de la région de Négropo. La plantation ne pas donne l'impression d'être abandonnée depuis longtemps, mais plutôt d'être mal entretenue. Quelques vieux hybrides de même âge que les robusta voisins existent. La vieille plantation d'arabica aurait été régénérée en plusieurs fois par du robusta avec la technique de ne remplacer seulement que les pieds manquants. Les premiers hybrides vigoureux installés par semis naturel avant le second remplacement auraient été préservés avec le planteur. Ils ont produit par la suite quelques descendants collectés sous leurs couronnes. On ignore si le planteur, aujourd'hui décédé, était au courant de la présence d'hybrides.

TAR01 (avec fruits) ; TAR02 (avec fruits) ; TAR03 (avec 3 fruits) ; TAR04 ; TAR05 ; TAR06 ; TAR07 ; TAR08 (1 jeune plant de type arabica sans rouille).

Région de TENDEA/FARINO

Tendéa

C'est une zone très boisée d'altitude au dessus de 200 m où existe un climat frais. Les vieilles plantations y sont très nombreuses et la région semble avoir été intensément exploitée par des planteurs de café. Plusieurs groupes d'hybrides ont été prospectés et prélevés.

site 1 en groupe : TEN01 (adulte porteur de fruits avec graines à semer) ; TEN02 à TEN14 (plants sous le TEN01)

Site 2 en groupe : TEN15 (adulte) ; TEN16 à TEN20 (des jeunes plants)

Site 3 en groupe : TEN21 ; TEN22 ; TEN23 (porteur de fruits avec graines à semer) ; TEN24 (porteur de fruits avec graines à semer) ; TEN25 à TEN28 (adultes en poquet) ; TEN29 ; TEN30.

Site 4 en groupe : TEN31, TEN32, TEN33, TEN34, TEN35, TEN36, TEN37, TEN38, TEN39, TEN40, TEN41, et TEN42

Site 5 chez Mme Lethézer : 1er groupe de caféiers - TEN43 (type arabusta) ; 2e groupe le long du creek - TEN44, TEN45, et TEN46

Farino

Collectes dans plusieurs plantations le long de l'ancienne route en terre passant par Petit Farino.

FAR11 (phénotype arabica sans rouille porteur de fruits avec graines à semer) ; FAR12 ; FAR13 ; FAR14 ; FAR15 (près de la mairie).

Friquet

Collectes dans des champs sous pâture appartenant à M. Friquet. Les arbres prélevés, très grands, sont fortement frottés par les vaches. Leur âge peut atteindre plusieurs dizaines d'années. M. Friquet rapporte que les vieilles plantations sont abandonnées depuis plus de 30 ans et qu'elles sont progressivement livrées au pâturage extensif. Les jeunes semis sous les arbres sont régulièrement piétinés avec le bétail et n'ont pas pu participer à l'évolution des hybrides depuis une vingtaine d'années. Les hybrides reconnus sont en mélange avec des grands robusta dans la même situation. Quelques rares pieds d'arabica ont survécu dans les zones périphériques non fréquentées par le bétail.

FRIQ01 (arabusta rouillé porteur de fruits avec graines à semer) ; FRIQ02 ; FRIQ03 ; FRIQ04 ; FRIQ05 ; FRIQ06 (un peu de rouille) ; FRIQ07 ; FRIQ08 (*C. arabica*, peut servir de témoin) ; FRIQ09 (arabusta à grandes feuilles de type robusta) ; FRIQ10 ; FRIQ11 ; FRIQ12 ; FRIQ13 ; FRIQ14 (1 tache de rouille) ; FRIQ15 ; FRIQ16 (double probable du 3, ou 4, ou 5).

COULI

Les collectes ont eu lieu dans une ancienne plantation de caféiers Le Roy. Celle-ci, appartenant à M. Constant Kathila, est située en bas du col d'Amieu. La caféière, jamais nettoyée, est partiellement exploitée pour faire du café Le Roy, les pieds récoltés occupent une partie centrale entourée d'un mélange de typica et de robusta. Les hybrides trouvés sont

généralement très grands, vigoureux et sans maladies pour la plupart. Ils proviennent de la zone à caféiers Le Roy. La grande taille des hybrides fondateurs laisse supposer que ceux-ci ont été repérés par les planteurs et volontairement conservés. Leur production très faible et la forme de leurs feuilles sont en faveur d'un niveau de ploïdie 3x. L'allure générale de ces hybrides issus du caféier Le Roy (parent maternel) est différente des hybrides avec typica. Au niveau F1 les feuilles sont plus petites et de forme plus allongée que les triploïdes classiques. En revanche, ils n'héritent pas de la morphologie plus compacte du parent Le Roy. Leur vigueur est très satisfaisante. Même les pieds repérés sensibles à la rouille ne semblent pas souffrir de cette maladie. Dix-sept hybrides sont collectés.

COU01 ; COU02 ; COU03 (sensible) ; COU04 ; COU05 (sensible) ; COU06 ; COU07 ; COU08 ; COU09 ; COU10 ; COU11 ; COU12 ; COU14 ; COU15, COU16 ; COU17 (jeune plant).

<p style="text-align: center;">C - Prospections complémentaires personnelles effectuées de 1996 à 1998</p>

Région de Farino/Tendéa

Des prospections ont été intensifiées avec collectes complémentaires dans des sites préalablement repérées et étendues jusqu'à la rivière Moindou.

TEN50 (jeune plant à morphologie arabusta), TEN51 et TEN52 (jeunes plants prélevés sous TEN01)

SZE01 à SZE16 prélevés dans une touffe d'hybrides

SZE01 et SZE02 sont les plus vieux et produisent des graines. Leur fertilité a été contrôlée à partir de fruits récoltés. Ils ont respectivement un coefficient de remplissage de 1,27 et de 1,05.

SZE14 et 15 porte quelques tâches de rouille.

Les semis des SZE01 et SZE02 ont produit des descendance pour étude en cytométrie de flux

Prolongement de la route de Tendéa jusqu'à la rivière Moindou

Plantation sous ombrage dense de M. Guy Bellier composée de beaucoup d'arabica avec quelques îlots de *C. canephora* dont les descendance disséminées favorisent les hybridations.

Par rapport aux autres plantations, les hybrides fondateurs sont seulement en train de se créer.

Dans une vingtaine d'années, la comparaison de son évolution avec celles comportant déjà des descendances Gx pourra apporter des réponses à la vitesse de propagation des flux de gènes. BEL01 (jeune arbre 3x d'environ 20 ans sans fruits) et BELO2 (jeune plant).

Vers le confluent de la Ouen-Doï sur la rivière Moindou

OUN01, OUN02, et OUN03 (3 plants en situation isolée). Leur phénotype ressemble à l'arabica mais n'ont pas de rouille, même sur les vieilles feuilles. Les 2 premiers sont adultes porteurs de fruits présentant peu de caracolis. Le 3^{ème} est un jeune pied juvénile avec des feuilles épaisses. L'allure de leurs feuilles laisseraient supposer qu'ils sont hybrides avec l'arabica Le Roy.

Sarraméa

Site 1 : vers la cuve située près de l'hôtel Evasion

EVA01 allure 3x porteur de quelques fruits dont les rares graines sont toutes scolytés

EVA02 idem au précédent

EVA03, EVA04, et EVA05 sont des jeunes plants complètement rouillés collectés sous le EVA02. Leurs allure n'est pas *C. arabica* mais *C. canephora*. La recherche de leurs ancêtres potentiels *C. canephora* sensibles à la rouille a été infructueuse. Le fait de trouver 3 plants côte à côte de phénotypes canephora sous un hybride, qui ouvre le débat sur une hypothétique introgression de *C. canephora* par des gènes *C. arabica*, accorde un intérêt à leur étude.

Site 2 : dans une plantation appartenant à l'indivision Bonnard-Delcuignié-Bonnard contenant des vieux arbres *C. liberica* à 400 m entre Me Paaya et Ba Duba.

La plantation sous ombrage naturel est isolée en altitude par des pâturages. Elle abrite de très vieux arbres *C. liberica* que l'ancêtre de la famille Bonnard aurait introduit du Gabon entre les deux guerres mondiales (date imprécise). Cette espèce groupée en sommet est bordée d'une frange composée de *C. arabica* et de *C. canephora* en mélange. Une brève prospection a permis de trouver les 3 formes hybrides et de démontrer leur richesse qualitative étroitement dépendante de la variabilité des espèces parentales en mélange :

- *C. arabica* x *C. liberica* (BDB01 de forme 3x et non kawisri) au voisinage du BDB04 ;
- *C. arabica* x *C. canephora* (BDB02) ;
- *C. liberica* x *C. canephora* (BDB03).

Des témoins *C. liberica* ont été collectés en boutures (BDB04). Ce sont des jeunes plants (BDB05 à BDB08), et des graines du BDB04.

Vallée de La Foa / Dogny

Dans la zone où un grand nombre d'hybrides a été déjà prospecté (DOG01 à DOG83), deux géotypes adultes très grands produisant des fruits ont été collectés en vue d'étude des descendances.

- DOG84 (type 3x) avec récolte de nombreux jeunes plants appelés DOG84FL, et des fruits ayant donné des graines qui ont été semées.
- DOG85 (type 3x) avec 20 jeunes semis dénommés DOG85FL sous sa couronne, et collectes de fruits ayant fourni 50 graines à semer.

ANNEXE II

**Liste des hybrides tétraploïdes présentant un intérêt
pour l'amélioration de *C. arabica***

**Liste des hybrides tétraploïdes présentant un intérêt pour l'amélioration de
C. arabica et leur quantité d'ADN nucléaire exprimée en fluorescence
relative par cytométrie de flux**

Posp,96		DOG08	714	Prosp.91	
FRIQ08	750	FAR15	713	FAR01	738
FRIQ12	747	KON51	710	REN10	728
HAO14	746	DOG05	710	REN08	727
FRIQ13	746	TAR06	710	NY07	724
KON36	746	KON52	702	GUE01	722
HAO27	746	FRIQ03	688	POT16	722
KON35	744	FRIQ07	686	POT05	721
TEN 3X	743	TAR02	678	ALB01	719
TEN19	741	FRIQ02	674	REN05	713
FRIQ05	740	FRIQ15	672	GUE03	707
DOG73	739	COU14	664	NAK01	702
TEN 6X	738	KWE02	662	WIN06	689
KON57	728	TEN51	659	POT09	686
NEG02	726			GUE09	679
FRIQ09	725			KON02	678
HAO02	720			POT11	678
TAR04	718			WIN05	670
TEN 1X	718			WIN02	657
TEN01	715			NAK02	656
DOG54	715				