

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE MONTPELLIER

THESE

présentée à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier pour obtenir le grade de :

DOCTEUR-INGENIEUR

**ETUDE DU POLYMORPHISME DE L'HYBRIDE DE TIMOR EN VUE DE L'AMELIORATION DU CAFEIER ARABICA : Variabilité enzymatique et agronomique dans les populations d'origine ; résistance incomplète à Hemileia vastatrix dans les croisements avec Coffea arabica.**

PAR

**German MORENO RUIZ**

Soutenue le 3 octobre 1989 devant le jury d'examen

JURY : MM. J. CHERY *Président*

A. CHARRIER

J. CHEVAUGEON

M. COUMANS

A. ESKES

ORSTOM Fonds Documentaire

N° 27.312 ex 2

19 DEC. 1989

Cote : A

# TDM 62

## ORSTOM

Editions de l'ORSTOM

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

*Collection :*

Travaux et documents microédités

PARIS 1989

ISBN 2-7099-0980-4

© ORSTOM

« La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, « que les «copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective» et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, «toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite» (alinéa 1er de l'article 40).

« Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code Pénal ».

# F 2

**à María Helena,**

**à Rodrigo, Andrea et Adriana María.**

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué grâce à un accord de coopération entre d'une part, la France représentée par son Ambassade à Bogota et par l'ORSTOM, et d'autre part la Fédération Nationale des Planteurs de Caféier de Colombie. Je veux exprimer toute ma gratitude à ces Institutions qui m'ont donné les moyens nécessaires afin de réaliser les travaux de recherche en France. En particulier, je souhaite vivement remercier les personnes suivantes :

- Monsieur A. CHARRIER, Directeur de Recherche de l'ORSTOM, qui a assuré l'encadrement scientifique de cette thèse, pour l'intérêt qu'il a toujours manifesté pour mon travail, pour sa contribution à la rédaction de ce document et plus spécialement pour sa profonde amitié ;
  - Monsieur G. VALENZUELA SAMPER, Directeur Technique Adjoint de FEDERACAFE, pour son appui constant au programme d'amélioration du caféier ;
  - Monsieur le Professeur J. CHERY, de l'ENSAM, pour avoir accepté de présider ce jury et pour ses critiques ;
  - Monsieur le Professeur J. CHEVAUGEON et Messieurs A. ESKEES et M. COUMANS, pour avoir accepté de participer à ce même jury;
  - Mademoiselle C. LANAUD, Monsieur R. MULLER et leurs collaborateurs de l'IRCC, pour l'accueil qu'ils m'ont réservé dans les laboratoires d'Electrophorèse et de Phytopathologie du CIRAD à Montpellier ;
  - Monsieur J. BERTHAUD, de l'ORSTOM, qui a suivi de très près l'évolution de mes travaux, pour ces conseils et pour son amitié ;
  - Monsieur M. NOIROT, de l'ORSTOM, pour son efficace assistance dans l'analyse des données ;
  - Mademoiselle A. DESBRUNAIS et Messieurs G. BEZANÇON et F. ANTHONY, de l'ORSTOM ainsi que Monsieur M. DUCHAMP, de l'IRCC, pour la lecture du manuscrit;
  - Messieurs J. CASTILLO et G. ALVARADO, de CENICAFE, pour la fourniture du matériel végétal ;
  - Mademoiselles S. ROSE et V. NARDINI, pour leur collaboration dans le travail de dactylographie ;
- et mon épouse María Helena et mes enfants Rodrigo, Andrea et Adriana María, pour leur compréhension et leurs encouragements durant cette période.

ANNEE : 1989

NOM DE L'AUTEUR : MORENO German

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE MONTPELLIER

**TITRE : ETUDE DU POLYMORPHISME DE L'HYBRIDE DE TIMOR EN VUE DE L'AMELIORATION DU CAFEIER ARABICA : Variabilité enzymatique et agronomique dans les populations d'origine ; résistance incomplète à *Hemileia vastatrix* dans les croisements avec *Coffea arabica*.**

Résumé :

La diversité existante dans l'Hybride de Timor (H. de T.), une population de caféiers d'origine interspécifique spontanée a été évaluée. L'étude a porté sur les caractères enzymatiques et agronomiques des origines de l'H. de T., ainsi que sur la résistance incomplète à la rouille orangée (*H. vastatrix*) de leurs descendances en croisement avec la variété Caturra.

Des 7 systèmes enzymatiques testés, seules les Phosphatases acides (PAC) et les Phospho-gluconate deshydrogénases (PGD) ont montré de la variabilité chez l'H. de T.. Cette variation est de la même nature que chez *C. arabica* ; elle est insuffisante pour établir un système de marqueurs enzymatiques et pour déterminer l'origine de l'H. de T..

Pour les caractéristiques agronomiques, la variation intra-origine est plus importante que la variation inter-origines. L'origine H. de T. 1343 est celle qui manifeste la variation enzymatique et agronomique la plus importante. Les meilleurs individus de l'H. de T. possèdent des caractéristiques agronomiques proches de la variété Typica. Leur sélection a été rendue plus efficace par l'utilisation des variables factorielles résultant de l'analyse multivariée.

Pour évaluer la résistance incomplète à *H. vastatrix*, une méthode statistique basée sur l'analyse factorielle des correspondances a été développée. Ainsi, la variation est mesurée sur deux axes orthogonaux qui représentent la taille des tâches et la quantité de sporulation. Dans les descendances F<sub>6</sub> de Caturra x H. de T. testées, on a détecté une diversité importante qui va des plantes avec des hauts niveaux de résistance jusqu' aux plantes avec des niveaux d'attaque supérieurs à celui de la variété Caturra.

Les résultats obtenus complètent nos connaissances sur l'H. de T. en tant que ressource génétique. La variabilité trouvée montre que cette population est très utile pour les programmes d'amélioration de *C. arabica* qui visent d'élargir la diversité génétique.

MOTS-CLES : *Coffea*, amélioration des plantes, Hybride de Timor, électrophorèse d'enzymes, caractères agronomiques, *Hemileia vastatrix*, résistance incomplète, diversité génétique, Colombie.

## Abréviations mentionnées dans le texte.

### Analyses statistiques :

ACP = Analyse en composantes principales.  
AFC = Analyse factorielle des correspondances.  
AFD = Analyse factorielle discriminante.  
CAH = Classification ascendante hiérarchique.

### Maladies.

CBD = Coffee Berry Disease (*Colletotrichum coffeanum*.)

### Germoplasm.

Cat. = Caturra.  
H. de T. = Hybride de Timor.

### Institutions.

CENICAFE = Centro Nacional de Investigaciones del Café, Chinchiná, Colombia.  
CIFC = Centro de Investigaçao des Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal.  
CIRAD = Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Montpellier, France.  
IRCC = Institut de Recherche du Caféier et du Cacao, Montpellier, France.  
ORSTOM = Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération, Montpellier, France.

### Paramètres.

I.I. = Index d'infection.  
I.I.M. = Index d'intensité de la maladie.  
I.S. = Index de sporulation.  
T.F. = Tâches fructifères.

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>1</b>
------------------------------	----------

## CHAPITRE 1

### **DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA RESISTANCE A LA ROUILLE, LE GERMOPLASM HYBRIDE DE TIMOR ET L'ANALYSE DES DONNEES.**

5

<b>1. Les résistances génétiques aux maladies ; cas de la résistance à la rouille orangée du caféier.</b>	
1.1. Types de résistance.	5
1.2. Résistance à <i>H. vastatrix</i> chez les caféiers.	7
1.3. Variation de la résistance à <i>H. vastatrix</i> chez l'Hybride de Timor.	8
1.3.1. Résistance spécifique.	8
1.3.2. Résistance incomplète.	10
<b>2. L'Hybride de Timor en tant que ressources génétiques.</b>	<b>12</b>
2.1. Valeur de l'Hybride de Timor pour l'amélioration des caféiers.	13
2.2. Germoplasm disponible de l'H. de T..	15
2.3. Utilisation de l'H. de T. dans différents pays.	15
2.4. Une autre population interspécifique spontanée, C-387.	19
<b>3. Analyse des données.</b>	<b>20</b>

## CHAPITRE 2

### **EVALUATION DE LA DIVERSITE DE L'HYBRIDE DE TIMOR**

22

#### **1<sup>ère</sup> PARTIE**

### **DIVERSITE ENZYMATIQUE CHEZ L'HYBRIDE DE TIMOR.**

23

<b>1. Utilisation de l'électrophorèse chez le caféier.</b>	<b>24</b>
--	-----------

<b>2. Matériel végétal utilisé.</b>	27
<b>3. Méthodologie</b>	27
3.1. Tissu analysé	27
3.2. Extraction	29
3.3. Tampons de migration	29
3.4. Gels	29
3.4.1. Gels d'amidon	29
3.4.2. Gels d'acrylamide	30
3.5. Révélation	30
3.6. Fixation et conservation	31
<b>4. Résultats.</b>	31
4.1. Sélection des tampons et des systèmes enzymatiques.	31
4.2. Variation dans le matériel analysé.	33
4.2.1. Systèmes monomorphes	33
4.2.2. Systèmes polymorphes	35
.1. Phosphatases acides (PAC)	35
.2. Phosphogluconate-deshydrogénase (6PGD)	38
<b>5. Discussion</b>	38

## **2<sup>ème</sup> PARTIE**

### **VARIATION DES CARACTERES AGRONOMIQUES DE L'HYBRIDE DE TIMOR.**

	41
<b>1. Matériel végétal utilisé.</b>	42
<b>2. Méthodologie.</b>	45
2.1 Caractéristiques évaluées.	45
2.2. Dispositif expérimental et analyse de l'information.	46
<b>3. Résultats.</b>	47
3.1. Etude de la variation inter et intra-origines de chacun des caractères.	47
3.2. Analyse multivariée des composantes de la diversité.	54
3.2.1. Comparaison des origines de l'H. de T. par l'ACP.	54
3.3. Effet de la sélection sur les variables factorielles	57

## CHAPITRE 3

### RESISTANCE INCOMPLETE A LA RACE II D'H. vastatrix CHEZ LES DESCENDANCES ISSUES DE CROISEMENTS ENTRE C. arabica ET L'HYBRIDE DE TIMOR.

	63
<b>1. Evaluation de la résistance incomplète.</b>	63
<b>2. Matériel utilisé.</b>	65
2.1. Le matériel végétal.	65
2.2. Le matériel fongique.	67
<b>3. Méthodologie.</b>	67
3.1. Sélection des feuilles pour l'inoculation.	67
3.2. Technique d'inoculation.	68
3.3. L'échelle d'évaluation.	68
3.4. Adaptations de la méthodologie.	68
3.4.1. Conduite des expérimentations.	68
3.5. Methodologie pour l'analyse des données.	70
3.6. Autres paramètres utilisés pour mesurer l'évolution de la maladie.	72
<b>4. Résultats.</b>	73
4.1. Développement de la maladie.	73
4.1.1. Explication du processus infectieux.	73
4.1.2. Classement des génotypes.	75
4.2. Des effets de l'environnement : les différences entre expérimentations.	77
4.3. Diminution de la quantité d'observations.	79
4.3.1. Utilisation des données d'une seule observation.	83
4.4. Caractérisation des groupes de résistance.	85
4.5. Variation dans la population testée.	89
4.5.1. Variation dans la population Caturra x H. de T.	89
.1. Descendances avec des variations internes importantes	92
.2. Descendances avec une variation interne faible	92
.3. Descendances avec une variation intérieure moyenne	95
4.5.2. Variation dans la population Caturra x C-387.	95

<b>5. Discussion.</b>	98
5.1. L'interprétation du processus infectieux à l'aide des anal. multivariées	98
5.2. Différences dues à l'environnement.	99
5.3. Réduction de la fréquence des observations.	100
5.4. Le classement des génotypes et leur caractérisation.	101
5.5. Variabilité dans la résistance incomplète.	102

## **CHAPITRE 4 DISCUSSION-CONCLUSION**

	106
<b>1. Rappel des principaux résultats.</b>	106
<b>2. Discussion et perspectives.</b>	110
2.1. Sur l'origine de l'Hybride de Timor.	110
2.2. Stabilité de la résistance à <i>H. vastatrix</i> .	113
2.3. Stratégies de la sélection basée sur l'H. de T.	116
2.4. L'utilisation de la variabilité en provenance d'autres sources	124
<b>3. Conclusion générale.</b>	126

## **BIBLIOGRAPHIE**

128

## **ANNEXES**

142

## **LISTE DES FIGURES, TABLEAUX, ANNEXES et PHOTOGRAPHIES**

150

## INTRODUCTION GENERALE

La caféiculture de l'Amérique Latine fournit 65 % de la production mondiale. Elle est la principale source de revenus pour de nombreux pays de cette région. Ces dernières années, cette importante industrie agricole a été menacée par l'arrivée redoutée d'une des maladies les plus importantes de *Coffea arabica* L., la rouille orangée (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), disséminée dans toutes les plantations du continent à partir de 1970 (CADENA 1982). Face à cette maladie, et à d'autres qui comme l'antracnose du fruit (*Colletotrichum coffeanum* Noack sensu Hindorf) constituent une menace potentielle, les variétés cultivées en Amérique sont uniformément sensibles. Le contrôle chimique est techniquement possible. Cependant, c'est une pratique qui conduit à des coûts élevés de production et qui dans les pays où la caféiculture est installée en zone montagneuse, ne peut être utilisée que difficilement. Dans ces conditions, le rôle joué par les variétés résistantes dans une stratégie de lutte globale est particulièrement avantageux.

En Amérique Latine, on cultive essentiellement *C. arabica*, la seule espèce tétraploïde ( $2n = 4X = 44$  chromosomes) et autocompatible du genre *Coffea* (CARVALHO et MONACO 1969; BOUHARMONT 1963). Cette espèce montre une grande diversité dans les conditions naturelles de l'Éthiopie, son aire d'origine (THOMAS 1942). Au contraire, les plantations d'Amérique se caractérisent par une extrême homogénéité génétique du fait qu'elles ont une origine très restreinte (CHEVALIER 1929). D'autre part, les mutations spontanées, la ségrégation de quelques gènes à l'état hétérozygote dans les populations initiales et les croisements naturels ou dirigés entre variétés généralement très apparentées, ont été les seules sources possibles de création de variabilité. Ajoutés à ceci, le faible nombre de variétés cultivées et leur fort pourcentage d'autopollinisation (90 % environ) contribuent à augmenter l'homogénéité. Ceci conduit à une vulnérabilité

importante aux parasites, un vrai danger pour la caféiculture américaine, comme l'a montré la vaste dissémination de la rouille orangée.

Du fait de l'absence de résistance chez les variétés régionales, les programmes d'amélioration de *C. arabica* de ces dernières décennies ont cherché à transférer à ces variétés la résistance qui se trouve dans le matériel exotique (CARVALHO 1988). Ces programmes consistent, de façon générale, à réaliser des hybridations suivies de sélection au cours des différentes générations obtenues par autofécondation ou par rétrocroisements sur le géniteur amélioré. Dans le cas des croisements interspécifiques avec les autres espèces diploïdes ( $2n = 2X = 22$  chromosomes) du genre *Coffea*, la barrière imposée par les différents niveaux de ploïdie a fait obstacle à l'obtention de matériel à usage commercial (CHARRIER et BERTHAUD 1985; VAN DER VOSSSEN 1985).

Parmi les programmes d'amélioration génétique de *C. arabica* entrepris en Amérique Latine, en Inde et en Afrique, l'attention a été portée sur l'emploi de populations hybrides naturelles, qui par leurs caractéristiques spéciales facilitent les programmes de sélection. L'une des ressources génétiques les plus prometteuses est l'Hybride de Timor (H. de T.), population tétraploïde partiellement fertile, provenant probablement d'un croisement naturel entre les espèces *C. arabica* (4x) et *C. canephora* (2x) (BETTENCOURT 1973). Son intérêt est lié à trois caractéristiques principales : en premier lieu, sa richesse en gènes de résistance spécifique à la rouille orangée, ajoutée à la présence d'une résistance de type incomplet. En second lieu, l'existence de résistances à d'autres maladies limitantes, entre autres l'antracnose des baies (CBD). Et enfin, la possibilité de trouver dans les populations créées par croisement avec des variétés de *C. arabica*, des génotypes réunissant les caractéristiques les plus intéressantes des deux géniteurs, sans qu'il existe d'obstacles insurmontables pour la sélection.

Le germoplasme de l'H. de T. disponible dans le monde provient de trois collectes de grains faites dans les plantations de l'île de Timor, son lieu d'origine, en 1955, 1960 et 1969 et diffusées par les chercheurs du Centro de Investigaçao des Ferrugens do Cafeeiro (CIFC, Oeiras, Portugal). Grâce aux échanges de germoplasme

entre les centres de recherche, l'ensemble des collections actuelles de l'H. de T. est composé d'un matériel important, le plus souvent dupliqué ou fortement apparenté.

En Colombie, le Centro Nacional de Investigaciones del Café, CENICAFE, dispose de ressources génétiques issues directement du matériel récolté par le CIFC. Une partie de ce matériel a été utilisée dans ce pays et nous a permis de créer la variété COLOMBIA, un cultivar de type composite résistant à la rouille orangée (CASTILLO et MORENO 1986). Dans d'autres pays, l'H. de T. a été également utilisé pour développer différents matériels améliorés (BETTENCOURT 1983; VAN DER VOSSSEN et WALYARO 1981).

Malgré cette large utilisation de l'H. de T., il n'existe pas vraiment d'étude comparative des différentes origines permettant d'évaluer leur variabilité génétique et leurs potentialités agronomiques. C'est la raison pour laquelle nous avons entrepris des recherches ayant pour objectif l'évaluation de la diversité existante dans les introductions de l'H. de T.. Notre étude a porté sur les caractères enzymatiques et agronomiques du matériel H. de T. en collection à CENICAFE, en Colombie. Les données agronomiques proviennent d'un essai de comportement réalisé dans ce pays. Un programme développé également dans ce centre de recherche a permis d'obtenir les descendances d'une génération avancée (F<sub>6</sub>) du croisement entre Caturra et l'H. de T., sur lesquelles nous avons évalué la variation pour la résistance incomplète à la race II d'*H. vastatrix*.

De telles études nous permettent d'augmenter l'information sur la population H. de T., non seulement pour sa meilleure utilisation, mais aussi pour orienter la création d'autres populations hybrides. Par exemple, l'estimation du niveau de variabilité et la valeur propre des géniteurs fournissent des renseignements de base pour les programmes d'hybridations qui utiliseraient la même voie qu'en Colombie. De même, l'éventuelle présence d'une résistance incomplète à la race II d'*H. vastatrix*, la plus communément rencontrée chez les descendances issues des croisements avec les variétés de *C. arabica*, renforce l'action de la résistance complète déjà existante chez elles, en augmentant la probabilité d'atteindre une résistance durable.

Au delà de l'objectif principal envisagé, nous avons développé l'application de la technique d'électrophorèse d'enzymes au matériel tétraploïde, technique qui avait été largement utilisée dans l'étude des espèces diploïdes par BERTHOU et al. (1980) et BERTHAUD (1986). Nous avons également développé une méthodologie pour l'évaluation et l'interprétation statistique des résultats concernant la résistance incomplète à la rouille, utilisable dans des populations de grand effectif.

Ce travail a été réalisé dans les laboratoires de l'ORSTOM et de l'IRCC, à Montpellier, en tant que programme conjoint entre ces deux organismes et la Fédération Nationale des Producteurs de Café de Colombie. Les thèmes abordés sont présentés de la façon suivante :

– le chapitre 1 est consacré à une revue bibliographique du sujet, en mettant l'accent sur la résistance génétique à la rouille orangée du caféier, sur l'H. de T. en tant que ressource génétique et sur la méthode utilisée pour l'analyse des données ;

– le chapitre 2 regroupe les analyses de la variation lue sur les caractères enzymatiques et agronomiques des différentes origines de l'H. de T.;

-- le chapitre 3 rapporte l'évaluation pour la résistance incomplète à la race II d'*H. vastatrix* des descendances de *C. arabica* var. Caturra x H. de T.;

– le chapitre 4 donne un résumé des principaux résultats acquis suivi d'une discussion et d'une conclusion générales.

## CHAPITRE 1

### **DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA RESISTANCE A LA ROUILLE, LE GERMOPLASM HYBRIDE DE TIMOR ET L'ANALYSE DES DONNEES.**

Des ouvrages récents sur le caféier permettent de disposer de synthèses bibliographiques complètes sur les domaines suivants : i) la systématique du genre *Coffea* (CHARRIER et BERTHAUD 1985) ; ii) la structure génétique des populations naturelles (BERTHAUD 1986) ; iii) la biologie et l'amélioration variétale (CARVALHO 1988 ; CHARRIER et BERTHAUD 1988 ; VAN DER VOSSEN 1985).

Nous nous contenterons de présenter dans ce premier chapitre des informations générales sur la résistance génétique aux maladies, particulièrement à la rouille orangée du caféier, sur l'Hybride de Timor et son utilisation dans la création de nouveaux cultivars de *C. arabica* résistants à cette maladie. Ces données bibliographiques seront complétées par les méthodes générales intervenant dans l'analyse des données.

#### **1. Les résistances génétiques aux maladies; cas de la résistance à la rouille orangée du caféier.**

##### 1.1. Types de résistance.

Le thème de la résistance génétique aux maladies, un des plus débattus de l'amélioration des plantes, a fourni ces dernières années différents concepts et théories qui sont développés dans de nombreuses publications scientifiques comme celles de

CIMMYT (1988) ; LAMBERTI et al. (1983) ; VANDERPLANK (1982) ; ELLINGBOE (1981) ; JOHNSON (1979) ; PARLEVLIE (1979) ; BROWNING et al. (1977) ; PARLEVLIE et ZADOKS (1977) ; ROBINSON (1976) ; NELSON (1972) ; FLOR (1971) ; VANDERPLANK (1968) ; BORLAUG (1964).

Généralement, les gènes de résistance aux maladies sont dominants et peuvent être étroitement liés ou former des séries alléliques. D'autre part, les gènes de virulence sont très souvent récessifs et s'héritent de façon indépendante (ELLINGBOE 1981; FLOR 1971).

De nombreuses associations entre hôtes et parasites ont été expliquées par l'hypothèse "gène pour gène" proposée par FLOR (1956, 1971). D'après cette hypothèse, "pour chaque gène qui détermine la résistance chez l'hôte, il existe un gène spécifique qui détermine la virulence du pathogène". En se basant sur cette hypothèse, VANDERPLANK (1968), postule l'existence de deux types de résistance : la résistance verticale et la résistance horizontale. La première est un cas extrême d'interaction et se trouve chez les plantes résistantes à certaines races mais sensibles à d'autres, alors que la seconde ne présente pas de telles interactions ; les plantes porteuses de cette dernière sont considérées comme ayant une résistance partielle à toutes les races.

NELSON (1972), préfère utiliser le concept épidémiologique selon lequel la résistance peut s'exprimer soit au niveau du processus d'infection (résistance complète) soit au niveau du processus post-infectieux (résistance partielle). Cette dernière se manifeste en termes quantitatifs et se mesure au moyen de paramètres tels que la surface de tissu infecté, la quantité de lésions, etc.

Les premiers débats aboutirent à la classification des résistances en catégories très contrastées. On a alors considéré que la résistance verticale ou spécifique exprime toujours une interaction cultivar-race, et s'explique grâce à l'hypothèse "gène pour gène" de Flor : elle est instable et son hérédité simple. Par opposition, on considère que la résistance horizontale, ou partielle, ne présente pas d'interaction hôte-parasite, qu'elle ne correspond pas à l'hypothèse "gène pour gène", et qu'elle est stable et d'hérédité polygénique. Cette séparation conduit à considérer

que le contrôle de la résistance dépend de deux mécanismes génétiques différents qui fonctionnent indépendamment.

Les résultats actuels montrent que la séparation des deux types de résistance, comme cela était proposé initialement, n'a pas de fondements solides. En effet, on sait, aujourd'hui, que la résistance partielle peut présenter des interactions race-variété (PARLEVIET et ZADOCKS 1977), qu'elle peut être déterminée par un ou plusieurs gènes (JOHNSON 1984), et que l'hypothèse de Flor peut aussi s'appliquer (MARSHALL 1977 ; PARLEVIET et ZADOKS 1977). D'autre part, des gènes de résistance spécifique peuvent conduire à l'expression d'une résistance partielle, dans certaines conditions (ESKES 1989 ; RODRIGUES 1985). Ces exemples montrent que les types de résistance, qu'on avait initialement séparés, ont des caractéristiques communes. L'évolution des concepts a conduit à une idée générale selon laquelle les gènes de résistance fonctionnent ensemble dans la nature, sans séparer l'action des systèmes de gènes majeurs et mineurs.

Pour définir la résistance des caféiers à *H. vastatrix*, nous utiliserons ici les termes suivants : i) "résistance spécifique" et "résistance non-spécifique", correspondent respectivement à la présence et à l'absence d'interaction hôte-pathogène (ESKES 1989) ; ii) "résistance complète" et "résistance incomplète", décrivent respectivement les situations où la production des urédospores est inhibée totalement ou partiellement (RODRIGUES 1985 ; ESKES 1983). Dans ces deux derniers cas, la résistance peut être "spécifique ou non-spécifique".

### 1.2. Résistance spécifique à *H. vastatrix* chez les caféiers.

La première étude génétique sur le complexe caféier-rouille est due à MAINE (1932) qui a identifié deux gènes de résistance chez *C. arabica* cultivé en Inde. Postérieurement, l'hypothèse sur la relation gène à gène développée par FLOR (1955) pour expliquer l'interaction hôte-pathogène a été appliquée avec succès par les chercheurs du CIFC, dans le cas du complexe caféier-rouille. Sur la base de cette hypothèse NORONHA-WAGNER et BETTENCOURT (1967) et BETTENCOURT et NORONHA-

WAGNER (1971) ont déterminé 5 gènes dominants, dont deux étaient les mêmes que ceux identifiés par Maine. Les gènes SH1, SH2, SH4 et SH5 sont caractéristiques du germoplasme de *C. arabica*, tandis que le gène SH3 est propre au matériel végétal de l'Inde, probablement dérivé d'un hybride naturel de *C. arabica* avec *C. liberica*. Le gène SH5 est le plus fréquent, tant dans les hybrides interspécifiques avec *C. arabica* que dans les formes sauvages et cultivées de cette espèce (RODRIGUES et al. 1975 ; CIFC 1965). Cependant, la présence de ce gène n'a pas été démontrée par l'observation de ségrégations, mais elle est déduite de l'application de l'hypothèse de Flor.

A l'heure actuelle, les travaux développés au CIFC ont permis l'identification de 30 races d'*H. vastatrix* sur 29 souches différentielles qui appartiennent aux espèces *C. arabica*, *C. racemosa*, *C. congensis*, *C. canephora* et à des hybrides interspécifiques.

### 1.3. Variation de la résistance à *H. vastatrix* chez l'Hybride de Timor.

#### 1.3.1. Résistance spécifique.

Dans l'H. de T. il y a des indications de la présence d'au moins 5 gènes majeurs de résistance, différents de ceux trouvés chez *C. arabica*. Ces 5 gènes expliqueraient les 6 groupes physiologiques trouvés chez l'H. de T (BETTENCOURT et RODRIGUES 1988 ; BETTENCOURT 1981). Cependant, la relation gène à gène entre l'H. de T. et ses races compatibles n'est pas complètement élucidée. Dans le tableau 1-1 nous présentons une interprétation des spectres de réaction déterminés au CIFC dans les descendances issues du croisement de *C. arabica* avec l'H. de T., inoculées avec des races compatibles. Un seul gène (SH6) est identifiable d'une manière claire (BETTENCOURT et al., 1980). L'existence de trois autres gènes, nommés provisoirement SH7, SH8 et SH9, a été proposée par BETTENCOURT et LOPES (1982). En plus de ces quatre gènes, il doit y avoir au moins un gène supplémentaire responsable du groupe A, résistant à toutes les races connues.

Le nombre de gènes existant dans la population de l'H. de T. a été aussi estimée sur la base des proportions des individus ségréants du groupe E caractérisé

**TABLEAU 1-1:** Relation hôte-parasite entre les populations issues de croisements entre *C. arabica* et l'Hybride de Timor et leurs races compatibles, d'après des études réalisées par le CIFC (adapté de Bettencourt 1981)

RACES DE H. VASTATRIX	GENES DE VIRULENCE (V)	PLANTES DIFFERENTIELLES ET GENES DE RESISTANCE							
		63/1 SH5	1343/269 SH6	H 440/7 SH5 SH6	H 419/20 SH?	H 420/2 SH?	H 420/10 SH?	832/1 SH?	
II	5	S	-	-	-	-	-	-	
XXXII	6	-	S	-	-	-	-	-	
XXII	5, 6	S	S	S	-	-	-	-	
XXX	5 et autres	S	-	-	-	S	-	-	
XXXI	5, 6 et autres	S	S	S	S	-	-	-	
XXIX	5, 6 et autres	S	S	S	S	M.S.	S	-	
Groupes physiologiques		E	R	4	3	2	1	A	

S = Sensible

- = Résistant

M.S. = Moyennement sensible

par la sensibilité à la plupart des races du pathogène. Avec ce système de calcul, on a estimé qu'il y aurait 4 ou 5 gènes en jeu tant dans les descendants du croisement avec la plante 832-2 (ESKES 1989), qu'avec les autres plantes de l'origine 1343 (CASTILLO et MORENO 1986).

D'autre part, il est probable que les plantes 832-1 et 832-2 soient différentes à l'égard de la présence de quelques gènes majeurs et de leur condition d'hétérozygotie. A ce propos, ESKES (1989) mentionne que les groupes physiologiques 1, 2 et 3, trouvés dans les descendance de la plante 832-1, n'apparaissent pas dans la descendance de croisement avec la plante 832-2. En plus, la proportion élevée du groupe E dans les dérivés du croisement avec cette dernière plante, suppose une condition d'hétérozygotie importante chez elle.

Dans les descendance des croisements faits en Colombie avec des individus de l'origine 1343, il a été trouvé les mêmes groupes physiologiques que dans les dérivés des croisements avec la plante 832-1 (CASTILLO et MORENO 1986). En conséquence, on suppose que ces deux origines comportent les mêmes gènes majeurs de résistance.

En résumé, il aurait dans la population de l'H. de T. de l'ordre de 5 gènes majeurs. Une telle quantité de gènes en ségrégation peut former  $2^5 = 32$  combinaisons différentes. Cette variabilité génétique est égale à celle qui pourrait être formée avec tous les gènes de l'espèce *C. arabica*, ce qui montre le niveau important de diversité chez l'H. de T..

### 1.3.2. Résistance incomplète.

Pendant la dernière décennie, les observations réalisées sur la résistance incomplète ont attiré l'attention des principaux centres de recherche chargés de l'amélioration génétique du caféier. Ces études ont été faites spécialement avec le matériel végétal de l'espèce *C. arabica* : GIL (1988), BIEYSSE (1985), VARZEA et al. (1985), ESKES (1983), MULLER (1984), LEGUIZAMON (1983), OWUOR (1983) ; de l'espèce *C. canephora* : ESKES (1983), CADENA et BURITICA (1980) et des hybrides interspécifiques artificiels ou naturels.

Chez la population originelle H. de T. dans l'île de Timor, la variation dans la résistance incomplète a été observée sur 60 plantes, de 1965 à 1975. A la fin de cette période, la moitié des plantes présentaient différents symptômes de la maladie, mais avec une intensité faible qui n'a pas affecté la production (GONCALVES et RODRIGUES 1976).

Sur des descendances issues de croisements entre des origines de l'H.de T. et des variétés de *C. arabica*, la résistance incomplète a été démontrée à plusieurs reprises. Une série d'études effectuées au Brésil a mis en évidence la résistance incomplète, spécialement dans le cultivar Catimor. La valeur de certains paramètres considérés comme composants de cette résistance a été utilisée comme critère pour confirmer sa présence (CARDOSO 1986 ; ABREAU 1984 et 1978 ; ESKEs 1983 ; CHAVES et al. 1980). Des variations dans les réactions (mélange de "flecks" et de petites tâches avec une faible sporulation) d'un groupe de plantes F5 du croisement nommé Catiflor ont été trouvées aussi par MARQUES (1980), au CIFC, au Portugal.

Dans les descendances issues des croisements réalisés en Colombie avec des plantes de l'origine 1343, la résistance incomplète a été aussi observée par LEGUIZAMON (1983) et par VARZEA et al. (1985). Dans ce dernier travail, des plantes de la génération F4 du croisement Caturra x H. de T. appartenant à plusieurs groupes physiologiques ont été inoculées avec leurs races compatibles. Une variation importante a été trouvée dans les ségrégants du groupe E, qui va de plantes plus sensibles que le géniteur, Caturra, à d'autres très résistantes avec une production de spores très faible. Les ségrégants des autres groupes physiologiques ont montré des hauts niveaux de résistance, caractérisés par une faible sporulation.

Cependant, aucun des travaux mentionnés précédemment a donné une explication satisfaisante de la nature de la résistance incomplète. Elle a été récemment clarifiée dans quelques descendances issues de croisements avec la plante 832-1 (ESKES et al. 1989). Dans ce cas, la résistance incomplète à la race II a été surmontée par l'isolat 2, un variant de cette race, ce qui indique la nature spécifique de la résistance incomplète existant dans ce matériel végétal. Dans le même travail, quelques

descendances ont montré une ségrégation pour la résistance à l'isolat 2, et un déterminisme génétique simple.

En résumé, nous pouvons déduire des études développées dans les différents centres de recherche, l'existence d'une résistance incomplète chez l'H. de T. et ses dérivés. Dans le seul cas où la nature de cette résistance a été confirmée, elle paraît être du type spécifique.

## 2. L'Hybride de Timor en tant que ressources génétiques.

L'H. de T. constitue une population hétérogène de caféiers qui a été multipliée à partir de semences récoltées probablement sur une plante unique découverte dans l'île de Timor dans la décennie 1940-1950, dans une plantation de *C. arabica* établie vers 1927 (GONCALVES et RODRIGUES 1976). Cette population a commencé son expansion dans la caféiculture de Timor dans les années 1950-1960, à partir de semences en provenance de plantes ayant subi une certaine sélection (GONCALVES et RODRIGUES 1976). Selon BETTENCOURT (1973), la population cultivée en 1973 à Timor se composait d'un hybride relativement avancé, qui avait subi, probablement, plusieurs rétrocroisements vers l'espèce *C. arabica*.

On suppose que l'H. de T. provient du croisement naturel entre les espèces *C. arabica* ( $2n = 4x = 44$  chromosomes) et *C. canephora* ( $2n = 2X = 22$  chromosomes). Les arguments en faveur de cette hypothèse sont : la présence dans la région de ces deux espèces et les caractéristiques spéciales de la plante "originelle" et de ses descendants. L'espèce *C. arabica* variété *Typica* (?) a été introduite à Timor entre 1750 et 1760, suite à l'expansion de la caféiculture, à partir de l'île de Java. La variété *Robusta*, de l'espèce *C. canephora*, a été introduite vers 1900, en provenance de cette même île (GONCALVES et RODRIGUES 1976). Selon WELLMAN (1961), les premiers matériels de cette variété introduits à Timor appartiennent probablement aux clones BP, SA, et Bgn sélectionnés par les chercheurs hollandais à Java.

Dans des plantes de l'H. de T. représentatives de la population originelle, le niveau de ploïdie de la plupart des cellules de la racine est de  $2n = 4x = 44$ . La création d'un hybride spontané de ce type suppose un événement de non-réduction gamétique, ou une duplication chromosomique du gamète de l'espèce *C. canephora* (RIJO 1974).

La plante considérée comme "originelle", qui existait toujours en 1976, présentait un phénotype similaire à celui de *C. arabica*, avec un bel aspect végétatif, mais avec une fructification faible et une proportion très élevée de grains caracoli. Quant à la résistance à la rouille, les observations faites au champ de 1962 à 1976 n'ont pas permis de détecter des symptômes de sensibilité (GONCALVES et RODRIGUES 1976).

### 2.1. Valeur de l'Hybride de Timor pour l'amélioration des caféiers.

L'H. de T. a une valeur particulière dans les programmes d'amélioration pour deux raisons principales. D'une part, la population est porteuse de gènes de résistance contre différentes maladies et ravageurs qui causent des dégâts d'importance économique pour le café. D'autre part, le croisement avec des variétés de *C. arabica* donne des descendance ayant un niveau raisonnable de fertilité. Parmi ces descendance, une sélection sur les caractéristiques parentales peut être réalisée, sans rencontrer d'obstacles insurmontables.

La résistance à la rouille est l'une des qualités les plus appréciées de l'H. de T. Cette maladie est présente dans l'île de Timor depuis 1890, et jusqu'à 1976, on avait détecté dix races (GONCALVES et al. 1976). Une proportion importante de la population H. de T. est résistante à toutes les races. Dans cette population, il y a, au moins, cinq gènes de résistance spécifique, lesquels, en ségrégeant, constituent de nombreux génotypes résistants. En plus de la résistance spécifique, l'H. de T. possède aussi une résistance de nature incomplète, qui se manifeste par des attaques légères de cette maladie (ESKES 1989 ; BETTENCOURT et RODRIGUES 1988 ; VARZEA et al. 1985). Il est probable que la diversité que présente l'H. de T. pour la résistance génétique à la rouille, soit la cause de l'équilibre hôte-pathogène observé par GONCALVES et

RODRIGUES (1976) dans la population originelle, qui se traduit par des attaques légères du pathogène, alors que plusieurs races sont présentes.

Les observations antérieures suggèrent aussi que la résistance de l'H. de T. est durable. En effet, au lieu d'origine, une proportion importante des plantations est restée résistante pendant plus de cinquante ans. En plus, au laboratoire du CIFC, quelques unes des plantes initialement prospectées continuent d'être résistantes, alors qu'elles sont périodiquement inoculées avec toutes les races existant dans la collection de *H. vastatrix*.

L'H. de T. possède aussi une résistance à l'antracnose des fruits (*Colletotrichum coffeanum*). En effet, le gène de résistance T a été trouvé dans des plantes de l'H. de T. et dans ses descendance par des variétés de *C. arabica* (VAN DER VOSSSEN et WALYARO 1980 ; COFFEE RESEARCH FOUNDATION 1976, 1978). L'efficacité de cette résistance a été vérifiée au laboratoire et en champs (WALYARO 1983 ; VAN DER VOSSSEN 1985).

En plus des résistances aux maladies déjà citées, on a pu déterminer dans la population de l'H. de T. des niveaux variables de résistance contre d'autres maladies et ravageurs : *Fusarium oxysporum* (CARDOSO et SERA 1981), *Pseudomonas syringae* (CARDOSO et SERA 1981), *Meloidogyne* spp. (FAZUOLI et LOURDELLO 1981 ; ARAUJO et al. 1981), *Leucoptera coffeella* (D'ANTONIO et PAULA 1981), *Hemileia coffeicola* (LOURD et HUGUENIN 1982) et *Ceratocystis fimbriata* (FEDERACAFE 1983).

Les caractéristiques agronomiques dans l'H. de T. ont été relativement peu étudiées. L'information existante à ce sujet est partielle. Elle permet, toutefois, d'avancer que l'H. de T. présente des défauts de vigueur et de fertilité. Ces caractéristiques seront étudiées en détail dans le chapitre 2.

La richesse de gènes de résistance contre différents ravageurs et maladies du café met en évidence l'intérêt de l'H. de T. pour les programmes d'amélioration qui ont pour objectif principal la création de variétés améliorées et le maintien d'une base génétique large pour la population.

## 2.2. Germoplasm disponible de l'H. de T.

Le germoplasm de l'H. de T. disponible dans le monde provient de trois collectes de graines, faites dans les plantations de Timor, envoyées au CIFC, Portugal à partir de 1955 et diffusées par ce centre de recherche à l'Amérique principalement.

La première collecte provient d'un groupe de graines envoyées au CIFC en 1955, identifiées par le numéro 832. Dans ce groupe, deux plantes sont distinguées par leur phénotype de *C. arabica* et par la résistance à toutes les races de rouille connues à ce jour : 832-1 et 832-2. Cette dernière est actuellement utilisée comme hôte différentiel du groupe de résistance nommé A et constitué par les plantes résistantes à toutes les races de la collection du CIFC.

La deuxième collecte correspond à une autre groupe de graines reçues au CIFC en 1960, et identifiées par le numéro 1343. Une des plantes provenant de cette collecte, le N°1343-269, est utilisée comme hôte différentiel d'un nouveau groupe de résistance appelé R.

La troisième et dernière collecte, identifiée par le numéro 2252, correspond à des graines récoltées en 1969 sur des arbres ayant subi une première sélection, établis dans des zones différentes de celles où avaient eu lieu les deux premières collectes (RODRIGUES, communication personnelle).

Le germoplasm de l'H. de T. existant en Colombie a été introduit à partir de 1961 en provenance du CIFC. Il dérive donc directement des trois collectes originales. Certains de ces matériels ont été reçus sous forme de plantules, de graines ou de boutures, directement de la collection du CIFC. Dans le tableau 1-2, on récapitule l'information relative à l'introduction de ces différents matériels en Colombie.

## 2.3. Utilisation de l'H. de T. dans différents pays.

Les programmes d'amélioration des principaux pays producteurs de *C. arabica* disposent de matériels résultant de croisements entre des variétés de cette

**TABLEAU 1-2** ORIGINES DE L'HYBRIDE DE TIMOR EXISTANT DANS LA COLLECTION DE CENICAFE EN COLOMBIE ET PROVENANT DU CIFC AU PORTUGAL.

Germoplasme	Origine	Année d'introduction en Colombie	Matériel végétal introduit	Plantes semées Nb.
Hybride de Timor	CIFC 832-1	1973	semences	20
	CIFC 832-2*	1973	bouture	10
	CIFC 1343	1961	semences	13
	CIFC 2252	1975	plantules	27

\* Différentiel du groupe A pour la résistance à *H. vastatrix*

espèce et des plantes de l'H. de T. Ces matériels proviennent principalement des hybridations effectuées au CIFC, Portugal, et à CENICAFE, Colombie.

Le germoplasm créé par le CIFC provient de croisements de variétés de *C. arabica*, en général de port nain, avec les plantes de l'H. de T. 832-1 et 832-2. Les premières générations de ces croisements ont été envoyées au Brésil, où ont été obtenues de nouvelles générations. Les génotypes supérieurs ont été expédiés du Brésil au Costa Rica. A partir du Costa Rica, ils ont été diffusés aux autres pays de la zone centraméricaine. Plus tard, le CIFC a aussi effectué quelques envois de ce type de matériel directement au Costa Rica. Ce matériel a aussi été distribué dans la même région.

Dans certains cas, les meilleures descendances de ces croisements ont été distribuées comme variétés commerciales. Le cas le plus connu est celui du CATIMOR, nom devenu générique pour tous les croisements entre la variété Caturra et l'H. de T. C'est sous ce nom qu'ont été distribuées au Brésil les premières descendances élites (CHAVES et al. 1977). D'autres noms ont été utilisés pour identifier les croisements d'autres variétés de *C. arabica* avec l'H. de T. comme : CATIAFFA (Catimor x Kaffa), CATINDU (Catimor x S-795), CAVIMOR (Catimor x Catuai), SARCHIMOR (Villa Sarchi x Hibrido de Timor), CACHIMOR (Caturra x Sarchimor), BLUMOR (Blue Mountain x Hibrido de Timor). Tous ces matériels dérivent de croisements avec les plantes H. de T. 832-1 et 832-2. La généalogie des croisements diffusés dans plusieurs pays peut être consultée dans les travaux de BÉTTENCOURT (1983) et de ECHEVERRI (1980).

Les matériels développés en Colombie proviennent de croisements faits dans ce pays entre la variété Caturra et des plantes de l'origine H. de T. 1343. Les graines des premières générations ont été envoyées au Brésil et ensuite au Costa Rica, d'où elles ont été diffusées aux autres pays de la région.

Des semences des générations F3 et F4 des croisements effectués en Colombie ont aussi été envoyées au Kenya pour des tests de résistance au CBD (anthracnose des fruits). Une partie de ce matériel a été exploité dans ce pays pour démarrer un programme spécial de croisements avec des hybrides locaux. Le résultat est

la variété Ruiru 11, qui cumule résistance à la rouille et résistance au CBD (WALYARO et al. 1982).

Le germoplasme mentionné dans les paragraphes antérieurs a été utilisé selon différentes stratégies de croisements.

Les matériels obtenus par les hybridations réalisées par le CIFC ont été utilisés selon une stratégie qui consiste, de façon générale, dans la multiplication de la meilleure descendance obtenue après plusieurs rétrocroisements sur la variété cultivée. Des descendances élites ont été obtenues par cette voie. Cependant, la méthode peut conduire à la diminution de la base génétique à cause de l'emploi des rétrocroisements et de la diffusion à grande échelle d'une seule descendance.

Une stratégie différente est employée au Kenya. Les meilleurs matériels F3 et F4 du croisement Caturra x H. de T. 1343, sont croisés avec des hybrides résistants au CBD. Les graines F1 obtenues sont données directement aux planteurs pour leur utilisation (VAN DER VOSSSEN 1985 ; WALYARO et al. 1982). On espère ainsi allier dans les plantes F1 les caractéristiques agronomiques intéressantes et la résistance à la rouille et au CBD. Dans la pratique, ce système peut présenter des limitations car il faut réaliser les pollinisations artificiellement à grande échelle pour obtenir des semences en quantité suffisante pour les programmes de plantation.

En Colombie, le programme développé se différencie des autres par différents points. En premier lieu, les géniteurs résistants utilisés proviennent de l'origine 1343. En second lieu, les descendances sont obtenues en autofécondation, donc sans rétrocroisement, pour éviter la dérive vers le géniteur cultivé. En troisième lieu, à chaque génération, il a été maintenu une population nombreuse, dans le but de faciliter la recombinaison des meilleures caractéristiques. Enfin, au terme du processus de sélection, les semences provenant des meilleures descendances sont mélangées pour constituer un cultivar de type "composite". L'objectif de cette stratégie est de maintenir, dans la population, un niveau important de variabilité génétique. C'est avec ce schéma d'amélioration qu'a été produite la "variété Colombia", diffusée chez les planteurs à partir de 1984 (CASTILLO et MORENO 1986).

On peut déduire des paragraphes précédents que les matériels dérivés de croisements de *C. arabica* par des plantes de l'H. de T. 832-1 et 832-2 ou 1343 sont disponibles pour les programmes d'amélioration des divers pays. Ce germoplasme a été utilisé selon différentes stratégies correspondant aux exigences et possibilités de chaque pays.

#### 2.4. Une autre population interspécifique spontanée, C-387.

Sous le nom de C-387 on connaît une autre population interspécifique, semblable dans certains aspects à l'H. de T., mais qui est dérivée probablement d'un croisement spontané entre *C. arabica*, variété Bourbon ( $2n = 4X = 44$ ) et *C. dewevrei* ( $2n = 2X = 22$ ). La plante d'origine, découverte au Brésil en 1935 dans une plantation de la variété Bourbon, présentait les caractéristiques suivantes : phénotype de *C. dewevrei*, vigueur et rusticité élevées ; fort taux de grains caracoli (60%) et de loges vides (16%). Des études ultérieures ont révélé son niveau tétraploïde ( $2n = 44$ ) et une stérilité quasi-complète (KRUG et al. 1950).

A cause de ses caractéristiques particulières, la plante originelle a été utilisée dans un programme spécial d'amélioration au Brésil, qui inclue la réalisation de plusieurs rétrocroisements vers *C. arabica*. L'étude de la population résultante a démontré que la fertilité et la production ont été améliorées considérablement grâce aux rétrocroisements effectués. Les descendances de la génération RC3 (troisième rétrocroisement vers *C. arabica*) montraient déjà un phénotype, une fertilité et des productions similaires à ceux de la variété Bourbon (MONACO et al. 1967).

Les graines des premières générations obtenues au Brésil ont été envoyées en Colombie, où une population de base a été installée. Les meilleures plantes de cette population ont été croisées par la variété Caturra. Ensuite, les meilleurs individus F1 ont été autofécondés. La sélection a été poursuivie jusqu'à la génération F3, dans laquelle se trouve une proportion importante de plantes agronomiquement supérieures.

Des plantules de la génération F2 ont été testées au CIFC au Portugal, dans lesquelles trois groupes physiologiques de résistance à *H. vastatrix* (A, M et E) ont été

trouvés (CASTILLO et MORENO 1986). Les gènes majeurs de résistance spécifique existant dans cette population proviennent probablement de l'espèce *C. liberica*. Le gène responsable du groupe A est indéterminé, tandis que le groupe physiologique M a été trouvé aussi dans l'Hybride Kawisari (CIFC 1965), un hybride naturel 4x entre *C. arabica* et *C. liberica* (CRAMER 1957).

Jusqu'à maintenant, la présence de résistance incomplète dans la population dérivée de C-387 n'a pas été évaluée.

### 3. Analyse des données.

L'interprétation des résultats a été basée pour l'essentiel sur des techniques d'analyses multivariées. Elles ont été choisies car elles permettent la prise en compte des individus pour plusieurs caractères. Pour l'étude des caractères quantitatifs agronomiques, c'est l'analyse en composantes principales (ACP) qui a été utilisée ; les caractères qualitatifs de la résistance à la rouille ont été étudiés par l'analyse factorielle des correspondances (AFC).

Sans entrer dans les détails sur les fondements mathématiques, nous présentons ici quelques aspects des analyses multivariées utilisées.

L'analyse en composantes principales est applicable à des données de nature quantitative qui peuvent être incluses dans des tableaux composés de  $n$  lignes (individus) et de  $p$  colonnes (variables). Quand on étudie plusieurs caractères, les individus sont représentés dans un espace à  $p$  dimensions ( $p$  = nombre de variables). L'ACP recherche des facteurs indépendants les plus importants de l'espace multidimensionnel afin de condenser l'information contenue par les  $p$  variables en un lot réduit de nouvelles variables synthétiques dénommées "composantes principales", lesquelles doivent être interprétées en leur donnant un sens biologique.

Quelques aspects particuliers doivent être pris en compte : i) les axes choisis sont orthogonaux, on considère donc que les phénomènes qu'ils représentent sont

indépendants ; ii) la variation contenue dans le tableau s'exprime en termes d'inertie. L'inertie, comme la variance, est additive, par conséquent, l'inertie d'un plan est la somme des inerties de ses axes ; iii) les individus qui interviennent dans le calcul des composantes principales sont appelés "actifs". Cependant, il est possible de projeter sur le plan factoriel des individus qui ne participent pas à la formation des axes. Ces individus sont appelés "supplémentaires".

L'analyse factorielle des correspondances, développée par BENZECRI (1973), est adaptée au traitement des données qualitatives. Par cette technique, la comparaison des individus s'appuie sur la comparaison des profils et non sur la valeur absolue des variables ; elle utilise une autre métrique appelée la distance  $X^2$ . Cependant, l'AFC est proche de l'ACP, donc les critères d'interprétation déjà mentionnés pour l'ACP sont aussi valides.

Enfin, pour établir la classification des individus et pour déterminer l'appartenance aux classes formées, on utilise les techniques complémentaires suivantes: i) la classification ascendante hiérarchique. En partant des profils des individus, cette technique conduit à la formation d'un dendrogramme sur lequel nous pouvons repérer des groupes d'individus selon leur comportement. ii) l'analyse factorielle discriminante. Ce test détermine si la classification obtenue est induite par l'échantillonnage ou pas, en calculant les pourcentages d'individus bien ou mal classés ; il détermine aussi les variables les plus discriminantes.

Tous les calculs ont été faits avec le logiciel NDMS (NOIROT et al., sous presse).

## CHAPITRE 2

### EVALUATION DE LA DIVERSITE DE L'HYBRIDE DE TIMOR

La connaissance de la nature et de l'organisation de la diversité existant dans les ressources génétiques donne plus d'efficacité aux programmes d'amélioration pour des aspects importants comme la sélection des géniteurs, le choix des stratégies d'amélioration, le type de résistance aux pathogènes, etc... Pour l'évaluation de la diversité, on utilise des caractères variés : la phénologie (morphologie des organes, croissance végétative...), les caractères d'intérêt agronomique (composantes du rendement, qualité du produit...), la structure chromosomique (niveau de ploïdie, caryotype...), la résistance aux parasites (présence de gènes ou niveau de la résistance), les marqueurs biochimiques et chimiques (enzymes, composés phénoliques...), entre autres. Les ouvrages de synthèse de FRANKEL et BENNETT (1970) et de PERNES et al. (1984) traitent de ces aspects en détail.

La valeur des caractères comme descripteurs de la variation dépend, pour une bonne part, de la relation phénotype-génotype qu'ils manifestent. Par exemple, la variation exprimée par quelques caractères morphologiques et d'autres liés à la production, ont spécialement un intérêt local, dû à l'influence du milieu. L'utilisation de la résistance génétique comme descripteur est limitée par la race du pathogène utilisé, par l'influence du milieu et par l'impossibilité d'utiliser pour les tests un grand nombre de races. Par contre, pour les caractères enzymatiques, la relation entre le phénotype et le génotype est directe, sans que le milieu participe à leur expression. C'est pour cela qu'ils ont été très utilisés pour mesurer la diversité (PERNES et al. 1984). Malheureusement, les

caractères enzymatiques sont rarement en liaison directe avec des caractères d'intérêt agronomique ou de la qualité (AUTRAN 1986 ; VIGNERON 1984).

Dans cette étude de la diversité de la population H. de T. nous avons choisi d'étudier le polymorphisme enzymatique et la variabilité des caractères agronomiques. Pour décrire la richesse génétique de la population, nous utiliserons dans ce travail les termes "variabilité génétique" et "diversité génétique" proposés par PERNES et al. (1984). Selon ces auteurs, le premier de ces termes doit s'utiliser préférentiellement quand l'instrument d'analyse est la génétique quantitative, et la variance le paramètre principal pour décrire la variation. Le second terme doit être réservé pour une estimation plus générale de la variation, ne faisant pas référence à un outil particulier d'analyse.

## **1<sup>ère</sup> PARTIE**

### **DIVERSITE ENZYMATIQUE CHEZ L'HYBRIDE DE TIMOR.**

Développée dans la décennie 1940-50 et étendue aux espèces végétales dans les années 60, l'électrophorèse des composants protéiques est devenue un outil très important en biologie des populations. La visualisation directe des enzymes sur les gels, grâce aux colorations spécifiques, permet l'utilisation de ces composants comme marqueurs génétiques. L'ensemble des bandes révélées (zymogramme) constitue le phénotype de chaque individu. Pour l'interprétation génétique, les bandes sont considérées comme l'expression plus ou moins directe des formes alléliques d'un gène. Des revues bibliographiques très complètes sur la technique de l'électrophorèse ont été faites par PASTEUR et al. (1987), TANKSLEY et ORTON (1983), HARRIS et HOPKINSON (1976).

Dans cette partie nous présentons les résultats d'une étude conduite à Montpellier, sur la variation enzymatique dans la population Hybride de Timor,

représentée par plusieurs descendance issues des origines disponibles dans la collection de CENICAFE, à Chinchiná, Colombie. L'objectif principal que nous nous sommes fixé est d'évaluer la diversité de la population H. de T. sur la base des caractères enzymatiques. De plus, nous avons aussi considéré d'autres questions connexes comme :

- l'identification des origines de l'H. de T. à l'aide de marqueurs enzymatiques;
- la recherche d'informations permettant de nous éclairer sur son origine ;
- l'amélioration de la technique d'électrophorèse appliquée au matériel tétraploïde.

### 1. Utilisation de l'électrophorèse chez le caféier.

Les études électrophorétiques sur caféier ont débuté il y a plus de 20 ans, mais leur application s'est développée d'une manière relativement lente. Dans le tableau 2-1 nous présentons un résumé comparatif des travaux publiés sur l'électrophorèse chez le caféier. Dans les premiers travaux réalisés, le polymorphisme a été évalué soit par la comparaison des profils électrophorétiques (CENTI-GROSSO et al. 1969), soit par la quantité de bandes révélées et par la distance parcourue par ces bandes pendant la migration (ROMERO et al. 1978 ; PAYNE et FAIRBROTHERS 1976 ; PAYNE et al. 1973). Avec cette méthodologie, des différences entre génotypes ont été révélées seulement pour le nombre de bandes, dans le cas des protéines totales (PAYNE et al. 1973) et de l'enzyme polyphénoloxydase (PPO) (PAYNE et FAIRBROTHERS 1976).

Une recherche de liaison entre la résistance des caféiers à *H. vastatrix* et leurs profils enzymatiques a été faite par GUEDES et RODRIGUES (1974), qui n'ont cependant pas réussi à établir une relation claire entre ces deux caractères. Pour l'enzyme PPO, des différences dans le nombre de bandes entre plantes de groupes physiologiques différents ont été trouvées. A l'intérieur d'un même groupe, des différences d'intensité de couleur des bandes ont été enregistrées. Cependant, ces auteurs suggèrent que ces

TABLEAU 2-1 : Principales caractéristiques des études électrophorétiques effectuées chez le caféier

REFERENCES	ESPECES ETUDIEES (*)	CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION TESTEE	PARTIE DE LA PLANTE ANALYSEE	SUPPORT	SYSTEME REVELE	METHODOLOGIE POUR L'OBTENTION ET L'INTERPRETATION DE L'INFORMATION
CENTI-GROSSO et al., 1969	1, 4	Types du marché	Semences	Amidon	Albumine	Comparaison des profils
PAYNE et al., 1973	1, 4	Variétés cultivées	Semences	Acrylamide	MDH Protéine total	Migration des bandes
GUEDES, RODRIGUES, 1974	1	Groupes physiologiques résistants à H. vastatrix	Feuilles	Acrylamide	EST, PAC, PFO, Protéine	Nombre de bandes
PAYNE, FAIRBROTHERS, 1976	1	Hybrides intervariétaux	Semences	Acrylamide	MDH, PAC, PFO, Protéine	Migration et nombre des bandes
BERTHOU, TROUSLOT, 1977	1, 4, 5, 7, 9	Echantillons de chaque espèce	Feuilles	Amidon	EST, MDH, PAC	Analyse génétique
ROMERO et al., 1978	1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 12, 15	Echantillons des collections de germoplasme	Feuilles	Amidon	EST, MDH	Index de similarité
BERTHOU et al., 1980	4, 5, 7, 8, 9, 15	Plantes collectées en différents endroits	Feuilles	Amidon	EST, ICD, LAP, MDH, PAC, PGD, PGI, PGM	Analyse génétique
HAMON et al., 1984	10, 13	Echantillons de populations sylvestres	Feuilles	Amidon	EST, MDH	Analyse génétique
BERTHAUD, 1986	3, 4, 5, 9, 15	Echantillons de populations sylvestres et de collections	Feuilles	Amidon	EST, ICD, MDH, PAC, PGD, PGI, PGM	Analyse génétique

\* 1 = *C. arabica*  
 2 = *C. bengalensis*  
 3 = *C. brevipes*  
 4 = *C. canephora*  
 5 = *C. congensis*

6 = *C. dewevrei*  
 7 = *C. eugenioides*  
 8 = *C. humilis*  
 9 = *C. liberica*  
 10 = *C. pseudozanguebarie*

11 = *C. racemosa*  
 12 = *C. salvatrix*  
 13 = *C. sessiflora*  
 14 = *C. standtii*  
 15 = *C. stenophylla*

différences entre groupes physiologiques peuvent être dues au fonds génétique des origines plutôt qu'aux gènes de résistance présents.

Une amélioration des techniques d'électrophorèse et d'interprétation des données a été faite à partir des études développées par des chercheurs de l'ORSTOM. Ces travaux ont été réalisés spécialement chez les espèces diploïdes, dans lesquelles un niveau important de polymorphisme a été trouvé (BERTHAUD 1986 ; HAMON et al. 1984 ; BERTHOU et al. 1980 ; BERTHOU et TROUSLOT 1977 ).

L'espèce *C. arabica* a été moins étudiée, mais lorsque elle a été comparée, un faible niveau de polymorphisme a été déterminé. En effet, l'analyse de 3 systèmes enzymatiques sur 10 origines éthiopiennes représentées par 10 plantes chacune a montré une variabilité dans seulement 2 bandes du système phosphatase acide (PAC) (BERTHOU et TROUSLOT 1977).

Sans doute, les apports les plus significatifs de ces derniers travaux sont liés à l'utilisation des analyses génétiques et à l'application des méthodes de la génétique des populations pour interpréter le polymorphisme.

Les analyses génétiques sont nécessaires pour l'interprétation de la relation phénotype-génotype, parfois masquée par les combinaisons des gènes. Grâce à ce type d'analyse, la variation dans les PAC chez *C. arabica*, mentionnée auparavant, a été expliquée par l'action d'un système "présence-absence" dû à un gène dominant. L'absence de la bande dans les individus récessifs démontre l'existence des allèles nuls dans cette espèce (BERTHOU et TROUSLOT 1977).

L'interprétation de la variation de l'enzyme phosphoglucose isomérase (PGI) chez *C. canephora* constitue un autre exemple de relation phénotype-génotype expliquée au moyen des analyses génétiques (BERTHAUD 1986). Pour cette interprétation, des géniteurs haploïdes doublés et leurs descendants F1 issus de leurs croisements ont été utilisés. La variation a été expliquée par la présence d'un locus avec deux allèles, chacun exprimé par une structure de trois bandes.

L'évaluation des résultats de l'électrophorèse à l'aide des paramètres de la génétique des populations a conduit à établir des affinités entre les espèces diploïdes

(BERTHOU et al. 1980), et à démontrer l'existence de groupes, avec des caractéristiques bien définies, à l'intérieur de l'espèce *C. canephora* (BERTHAUD 1986).

## 2. Matériel végétal utilisé.

Le matériel évalué est présenté dans le tableau 2-2. Ce matériel provient en majeure partie de graines obtenues par fécondation libre, récoltées sur les arbres de la collection de CENICAFE, Colombie.

Les descendances de l'H. de T. correspondent à la génération suivant celle de l'introduction en Colombie depuis le CIFC, dont nous avons déjà parlé dans le paragraphe 2.2 du chapitre 1. Les descendances de l'origine Cioccie de *C. arabica* dérivent du germoplasme récolté par Sylvain en Ethiopie (SYLVAIN 1958). Caturra, Typica et Bourbon sont les variétés les plus cultivées de l'espèce *C. arabica*. Pour chaque descendance nous avons testé entre 8 et 12 plantes. Les systèmes enzymatiques sélectionnés ont été étudiés sur chaque plante.

Dans la partie basse du tableau 2-2, on a rajouté quelques plantes qui n'ont été étudiées que pour quelques enzymes seulement. Ces plantes proviennent de graines récoltées sur des arbres de la collection de Côte d'Ivoire et appartiennent aux espèces *C. arabica*, *C. canephora* et à l'hybride interspécifique entre celles-ci, Arabusta.

## 3. Méthodologie

Les analyses par électrophorèse ont été réalisées au laboratoire d'électrophorèse du CIRAD à Montpellier.

### 3.1. Tissu analysé.

On a utilisé de jeunes feuilles, au stade "feuilles accolées" de sorte que leur âge physiologique soit uniforme même si les plantes sont d'âge différent. Ce type de

TABLEAU 2-2 : Généalogie du matériel végétal utilisé pour l'étude électrophorétique du polymorphisme enzymatique

GENOTYPE	DESCENDANCES TESTEES	
	Genealogie en Colombie	N° Montpellier
H. de T. CIFIC 832-1	74/1 n° 164	26
	169	27
	261	28
	262	52
	263	53
	265	31
	268	54
	269	33
H.de T. CIFIC 832-2	M. n° 80	34
H. de T. CIFIC 1343	I 565	101
	" 566	102
	" 567	103
	" 568	104
	" 570	105
	" 571	106
	" 572	107
	" 573	108
H. de T. CIFIC 2252	" 575	109
	" 576	110
	IP 2953	44
	" 2956	8
	" 2959	45
	" 2965	46
	" 2967	47
" 2968	9	
CIOCCIE (C. arabica)	" 2969	10
	C 1	1
	" 2	2
	" 3	3
	" 4	4
	" 5	5
	" 6	6
	" 7	7
	" 8	48
	" 9	49
	" 10	50
" 11	51	
CATURRA (C. arabica)		
TYPICA (C. arabica)		
BOURBON (C. arabica)		

C. arabica : 11 plantes de la prospection ORSTOM en Ethiopie  
C. canephora : 10 plantes du groupe congolais  
C. canephora : 10 plantes du groupe guinéens  
Arabusta : 2 plantes de la collection de l'IRCC

feuilles avait déjà été utilisé avec succès par BERTHOU et TROUSLOT (1977) et par BERTHAUD (1986) pour l'électrophorèse des caféiers.

### 3.2. Extraction.

Le tampon d'extraction est présenté dans l'annexe 1. Ce tampon est équivalent à celui utilisé pour les caféiers par BERTHOU et TROUSLOT (1977), modifié par rapport aux concentrations des composants.

Au moment de l'extraction, on ajoute du PVP (Polyvinyl pyrrolidone) pour éviter l'oxydation pendant le broyage ; la quantité ajoutée est égale au poids de l'échantillon de tissu végétal. La quantité de tampon d'extraction ajoutée à chaque échantillon est de 0.8 cc pour 100 mg de tissu végétal.

### 3.3. Tampons de migration.

Les premières migrations furent faites en utilisant les tampons de migration proposés par BERTHOU et TROUSLOT (1977). Cependant les résultats obtenus à Montpellier n'ont pas été totalement satisfaisants. Ceci pouvait être dû aux conditions générales différentes existant entre ces deux laboratoires quant aux conditions de migration. D'autres tampons ont donc été expérimentés, suite à une révision de la littérature sur ce sujet (HENDEL et STUBER 1984). Dans l'annexe 1, on présente les tampons évalués.

### 3.4. Gels.

Selon les enzymes à étudier, on a utilisé deux types de gel.

#### 3.4.1. Gels d'amidon.

On utilise des gels d'amidon hydrolysé, à une concentration de 12%. Pour cela, l'amidon est mis en suspension avec le tampon du gel et chauffé jusqu'à ébullition, avec une agitation continue. Quand il a acquis une apparence visqueuse, il est dégazé et versé dans un récipient rectangulaire de dimensions 17 x 20 x 1 cm. Après

refroidissement, on le recouvre d'un papier scell-o-frais et on le conserve à température ambiante jusqu'au moment de l'utilisation.

L'extrait de chaque échantillon sert à imbiber des morceaux de papier Whatman N°3, de forme rectangulaire, de 0.5 x 1.0 cm. Ils sont introduits dans le gel à 4 cm du bord. La migration s'effectue en chambre froide à 5°C.

Le maximum d'ampérage et de voltage utilisés par plaque ont été de 40 mA et 180 Volts. La durée de migration est de 7 heures. Dans le cas des tampons discontinus, au début de la migration, on appliquait seulement un courant de 25 mA et 120 Volts. Après une heure, les réglages étaient ceux correspondant aux maximums déjà cités.

#### 3.4.2. Gels d'acrylamide.

On utilise le système discontinu de Orstein-Davis, AOD, composé de trois gels dont la concentration ionique varie ainsi que le pH. Dans le premier gel, on dépose les extraits préalablement centrifugés. Le second est de faible concentration, à pores larges, qui permet une pré-séparation des protéines. Le troisième gel, à pores réduits, permet la séparation proprement dite des protéines. Dans le premier et deuxième gel, on réalise une polymérisation chimique qui s'initie avec du persulfate d'ammonium. Dans le gel de séparation, la polymérisation se réalise avec la riboflavine en présence de lumière. La migration s'effectue en cuve, avec un système réfrigérant, à 4°C. L'indicateur de migration est du Bleu de Bromophénol. Dans l'annexe 2, on inclue le protocole utilisé pour la fabrication de ce type de gel.

#### 3.5. Révélation.

Après la migration, les gels d'amidon sont découpés longitudinalement avec un fil d'acier, en tranches de 1,5 mm d'épaisseur. Chaque enzyme est révélée avec des solutions spécifiques (HARRIS et HOPKINSON 1976 ; BREWER 1970). On a testé 18 systèmes enzymatiques.

### 3.6. Fixation et conservation.

On bloque la réaction de révélation par une solution d'acide acétique. Ensuite, le gel est placé dans une solution de glycérol pendant 24 heures. Pour le séchage, le gel est placé entre deux feuilles de papier cellophane humidifié dans une solution de glycérol, et placé sur une vitre. Après 72 heures, dans les conditions ambiantes du laboratoire, le séchage est satisfaisant.

## **4. Résultats.**

### 4.1. Sélection des tampons et des systèmes enzymatiques.

Les enzymes et les tampons utilisés sont présentés dans le tableau 2-3, séparés en trois groupes d'après la qualité des zymogrammes obtenus.

Le groupe 1 est formé par les systèmes et tampons qui ont donné des zymogrammes avec une bonne résolution : les bandes sont nettes, répétibles et interprétables.

Le groupe 2 est constitué par les systèmes et tampons qui ont fourni des zymogrammes avec une activité enzymatique, mais qui ne sont pas interprétables, car on observe des distorsions, ou les migrations sont difficilement répétibles. Pour des raisons pratiques, l'étude de ces systèmes a été arrêtée, mais des mises au point des conditions de migration (ampérage, voltage, durée, concentration des tampons), ou des conditions de révélation, pourraient améliorer la qualité des zymogrammes.

Le groupe 3 est composé des systèmes et tampons pour lesquels l'activité est nulle ou très faible. Pour ces enzymes, il faudrait tester d'autres types de tampon.

Après avoir déterminé les meilleures combinaisons, le travail a été poursuivi avec les enzymes et les tampons du premier groupe. Quelques enzymes de ce groupe se révèlent bien avec deux tampons. Dans ces cas, on a préféré le tampon qui pouvait être utilisé avec le plus grand nombre d'enzymes. Dans le cas des PAC, on a choisi le

**TABLEAU 2-3** : Classement des systèmes enzymatiques étudiés et des tampons de migration utilisés en fonction de la qualité des zymogrammes

GROUPE 1/	SYSTEMES ENZYMATIQUES	TAMPON DE MIGRATION					2/
		1	2	3	4	5	ACRY
1	Isocitrate-déshydrogénase (ICD)		+				
	Malate-déshydrogénase (MDH)		+				
	6-Phosphogluconate-deshydrogénase (PGD)		+				
	Glucose-phosphate-isomérase (GPI)	+	+				
	Phosphoglucomutase (PGM)	+	+				
	Estérase (EST)					+	+
	Phosphatase acide (PAC)					+	+
2	Glutamate-oxaloacetate-transaminase (GOT)	+		+		+	
	Leucine-amino-peptidase (LAP)				+	+	
	Shikimate-déshydrogénase (SKD)		+		+		
	Diaphorase (DIA)				+		+
3	Alcool-déshydrogénase (ADH)	+		+		+	
	Glutamate-déshydrogénase (GDH)			+	+	+	
	Peroxydase (PER)					+	+
	Polyphenol-oxydase (PPO)			+		+	+
	Endopeptidase (END)				+	+	+
	Glucosidase (GLU)				+	+	
	Glucose-6-phosph-deshydrogénase (G6PD)			+	+		

1/ 1 = Bonne qualité des zymogrammes  
 2 = Activité enzymatique mais les zymogrammes ne sont pas interprétables  
 3 = Activité enzymatique faible ou nulle

2/ Voir annexes 1 et 2

gel de polyacrylamide car il avait un plus grand pouvoir de résolution. En effet, quand on utilise l'amidon, on obtient des bandes étalées ; avec l'acrylamide, on observe que chacune de ces bandes est composée d'une série de trois bandes fines, nettes et parfaitement interprétables (voir planche en annexe).

En résumé, parmi les 18 enzymes et 6 tampons testés, on a choisi les combinaisons suivantes :

Enzymes PGI et PGM = Tampon 1 (Histidine-Citrate pH 6.0)

Enzymes ICD, MDH et PGD = Tampon 2 (Tris-Citrate pH 7.0)

Enzymes PAC et EST = Acrylamide (AOD)

#### 4.2. Variation dans le matériel analysé.

L'H. de T. et l'espèce *C. arabica* ont été étudiés pour sept systèmes enzymatiques. Cinq se sont révélés monomorphes alors que deux étaient polymorphes.

##### 4.2.1. Systèmes monomorphes.

Tout le germoplasm analysé, provenant des trois origines de l'H.de T., de matériel cultivé et de matériel sauvage de *C. arabica*, est monomorphe pour les enzymes PGI, PGM, MDH, ICD et EST. Dans la Fig. 2-1, on présente le diagramme des zymogrammes caractéristiques de ces enzymes. Quelques uns de ceux-ci montrent certaines particularités que nous présentons ci-dessous :

\* Une bande est diffuse ou ne se révèle pas. C'est le cas pour la bande la plus lente des zymogrammes des enzymes PGM et EST, lesquelles présentent quelque fois une faible activité.

\* Le nombre de bandes peut changer quand on modifie certaines des conditions. Par exemple, si on utilise le tampon 2 (Tris-Citrate pH 7) pour l'électrophorèse de l'enzyme ICD, on révèle seulement 2 bandes au lieu de 3. Dans le cas de l'enzyme MDH, le nombre de bandes observées se réduit de 5 à 4 quand on change la qualité de l'amidon, ou quand on

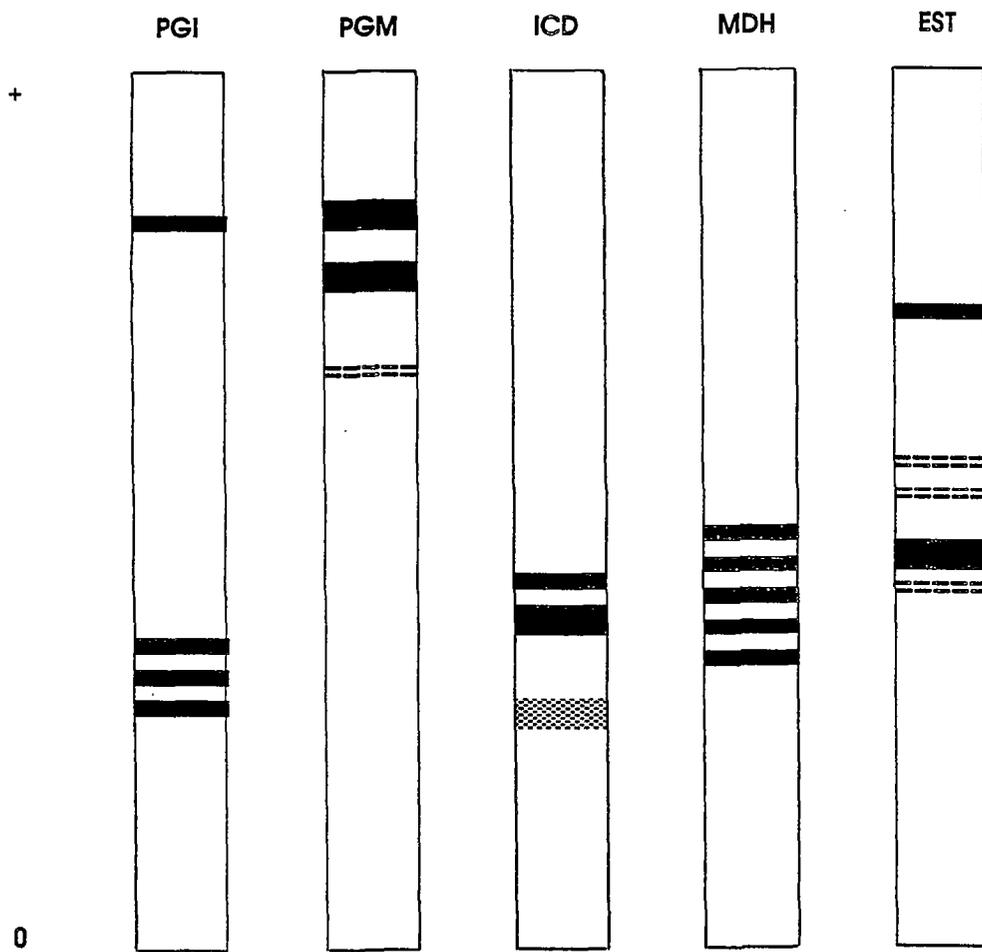


Figure 2-1. Zymogrammes observés dans l'Hybride de Timor et dans *C. arabica*, pour 5 systèmes monomorphes.

utilise le tampon 1 (Histidine-Citrate pH 6). Quand on emploie des extraits congelés et conservés un certain temps, le nombre de bandes observées se réduit à trois.

#### 4.2.2. Systèmes polymorphes.

Dans la population de l'H. de T. et dans le germoplasm de *C. arabica* on a trouvé une diversité pour les enzymes PAC et PGD.

##### .1. Phosphatases acides (PAC)

On a analysé seulement les zymogrammes de la partie cathodique. Cinq zones d'activité ont été notées, chacune composée d'un groupe de trois bandes (Fig. 2-2). Par comparaison des zymogrammes, il semble que les zones 2 et 4 soient équivalentes aux bandes 1,05 et 0,90 décrites pour *C. arabica* par BERTHOU et TROUSLOT (1977). La zone 1 correspondrait au locus PAC1 décrit par BERTHAUD (1986) chez *C. canephora*. Les bandes des zones 3 et 4 ont une coloration plus intense que les autres.

Dans toutes les zones, on a pu observer une diversité, caractérisée par la présence ou l'absence du groupe de trois bandes. L'emploi de cette présence-absence comme critère de différenciation montre l'existence dans la population de six classes de zymogrammes (voir Fig. 2-2 et tableau 2-4).

Selon les origines de l'H. de T. on constate que le matériel dérivé des plantes 832-1, 832-2 et de l'origine 1343 présente plusieurs classes de zymogrammes ; au contraire, dans l'origine 2252 un seul type de zymogramme a été trouvé.

Parmi les souches de *C. arabica*, les variétés cultivées Typica, Bourbon et Caturra, présentant la structure génétique de lignées pures, produisent un seul type de zymogramme (type 2) équivalent à celui de l'origine H. de T. 2252.

Dans les matériels *C. arabica* spontanés, on observe différents types de zymogrammes. Dans les descendances de l'origine Cioccie et parmi les plantes provenant de la collection ORSTOM de matériel éthiopien, on trouve aussi quelques phénotypes identiques à ceux des origines 832 et 2252 de l'H. de T.

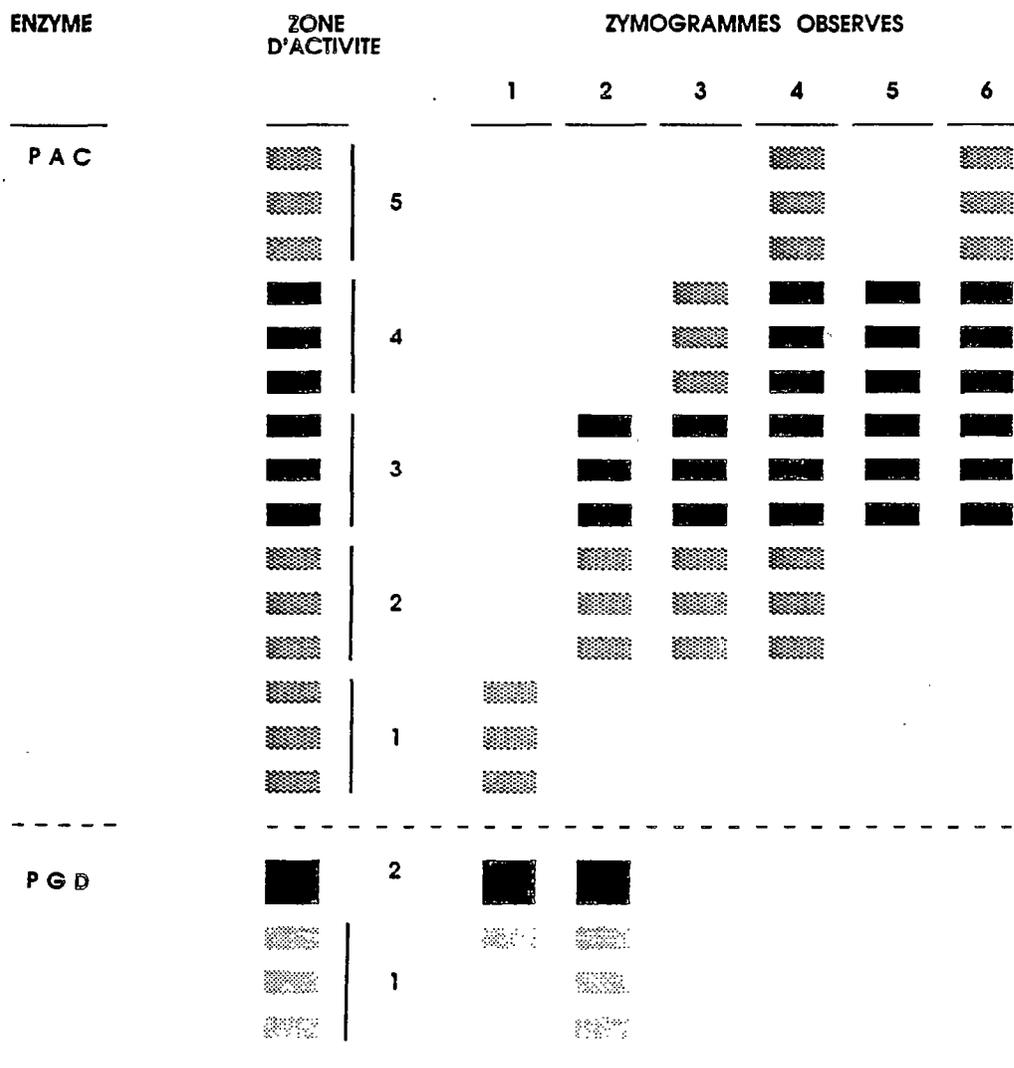


Figure 2-2. Zones d'activité et zymogrammes observés dans l'Hybride de Timor et dans *C. arabica* pour les enzymes PAC et PGD.

**TABLEAU 2-4** : Distribution des plantes de l'Hybride de Timor, *C. arabica* et Arabusta, en fonction du type de zymogramme observé pour les enzymes PAC et PGD

GENOTYPES	Descendance N°	PAC						PGD			
		Pls Nbre	ZYMOGRAMMES						Pls Nbre	ZYMOGRAMMES	
			1/							2/	
			1	2	3	4	5	6		1	2
H. de T. CIFIC 832/1	26	12	2	1	4	2	3	12	12		
	27	12	2	4	4	1	1	12	12		
	28	12	12					11	11		
	31	12	5	4		2	1	12	12		
	33	11	9	2				9	9		
	52	12				6	6	12	12		
	53	11		1		3	7	11	11		
	54	10			1	3	6	11	11		
H. de T. CIFIC 832/2 (clon. dif.)	34	9	2	4		2	1	12	12		
H. de T. CIFIC 1343	101	10	10					10	10		
	102	10	1	5	1	1	2	10	10		
	103	9	9					10	7 3		
	104	11	10	1				11	11		
	105	10		1		1	8	10	10		
	106	10	10					9	9		
	107	10		7	1	1	1	10	8 2		
	108	8	8					8	8		
	109	10	10					10	10		
	110	10	1	8	1			10	10		
H. de T. CIFIC 2252	8	12	12					6	6		
	9	12	12					4	4		
	10	12	12					9	9		
	44	11	11					10	10		
	45	11	11					12	12		
	46	12	12					12	12		
C. arabica CIOCCIE	1	12				12		10	10		
	2	11				11		10	10		
	3	12	2	6		4		10	3 7		
	4	12				8	4	9	9		
	5	12				12		11	11		
	6	12				5	7	9	9		
	7	12		1		11		10	10		
	48	11		1		10		10	10		
	49	12				12		11	11		
	50	9				9		10	10		
	51	10	3	7				10	2 8		
C. arabica Et 1-1		1	1								
" " 1-4		1	1								
" " 20-7		1	1								
" " 39C8		1	1								
" " 7-6		1						1	1		
" " 12-1		1				1					
" " 12-4		1				1					
" " 12-5		1				1					
" " 7-3		1					1	1	1		
" " 25-2		1					1	1	1		
" " 25-3		1					1	1	1		
C. arabica var. Bourbon			x						x		
" " " Caturra			x						x		
" " " Typica			x						x		
Arabusta							x		x		

1/ Voir figure 2-2

2/ Voir figure 2-2

D'autre part, les zymogrammes observés dans l'échantillon de *C. canephora* sont différents de ceux trouvés dans *C. arabica* et dans l'H. de T., tandis que les plantes d'Arabusta ont présenté des zymogrammes du type 6, présents dans les *C. arabica* spontanés et dans l'H. de T.

## .2. Phosphogluconate-deshydrogénase (6PGD)

Les zymogrammes pour cette enzyme montrent 2 zones d'activité (Fig. 2-2). La zone 2 est formée d'une bande plus épaisse que les autres, souvent déformée, surtout quand on utilise le tampon Tris-Citrate pH7. La zone 1 présente une ou trois bandes fines, relativement proches, quelque fois difficiles à visualiser.

Dans le matériel analysé, la seule variation observée a été trouvée dans la zone 1 (voir Fig. 2-2 et tableau 2-4).

Les matériels dérivés de l'origine H. de T. 1343 présentent des zymogrammes à une ou trois bandes. Les autres introductions de l'H. de T. ne montrent que des individus à trois bandes.

Dans le matériel *C. arabica*, on observe aussi une variation. Les variétés cultivées (Typica, Bourbon, Caturra) présentent des zymogrammes à trois bandes. Au contraire, la majorité des descendances de l'origine Cioccie ont des zymogrammes à une bande, sauf deux descendances pour lesquelles les zymogrammes des deux types ont été observés. Ces deux types se retrouvent aussi dans le matériel de la collection ORSTOM d'Ethiopie.

## 5. Discussion.

Si on considère notre échantillon de H. de T. comme représentatif, on peut en déduire qu'il n'existe pas dans cette population de variation pour les gènes qui contrôlent l'expression des enzymes PGI, PGM, MDH, ICD et EST. Pour ces enzymes, l'H. de T. se comporte comme l'espèce *C. arabica*, ces enzymes étant très variables chez les caféiers diploïdes.

Pour les enzymes PAC et PGD, il existe par contre une variation intra- et inter-origines. La 1343 paraît être la plus variable. Par rapport aux PAC, elle présente tous les phénotypes ; le type 1 n'a été trouvé que dans cette origine. C'est aussi la seule qui présente 2 types de zymogrammes pour les PGD.

La variation montrée par les descendances issues des plantes 832-1 et 832-2, a été équivalente. Leur comportement identique s'explique par leur origine commune (voir paragraphe 2.2 du chapitre 1).

L'origine 2252 ne présente aucune variation et se comporte comme le matériel cultivé de *C. arabica*. D'après RODRIGUES (1978), cette origine provient du matériel qui a subi une sélection agronomique favorable à une dérive vers *C. arabica*, quant à l'expression des enzymes PAC et PGD.

Des hypothèses détaillées sur le déterminisme génétique ne peuvent pas être développées du fait que les zymogrammes des géniteurs sont inconnus. Cependant, sur la base des différents types de zymogrammes observés, nous pouvons faire quelques commentaires sur la condition génétique du matériel testé.

Par rapport au système PAC, l'observation de 4 à 5 zymogrammes différents dans quelques descendances ne peut être expliquée que par l'action de plusieurs gènes, probablement 2 ou 3. Dans ces cas, les géniteurs seraient porteurs de tels gènes à l'état hétérozygote. Par contre, les géniteurs des descendances à un seul type de zymogramme seraient homozygotes.

Dans le cas de l'enzyme PGD, la présence d'individus ayant une bande (homozygote) ou trois bandes (hétérozygote) pourrait être expliquée par l'action d'un gène possédant 2 allèles actifs. L'enzyme serait donc dimère. Cependant cette supposition est incompatible avec la présence des 3 bandes observées dans tous les cas pour les variétés Typica, Bourbon et Caturra, de type "ligne pure". Cette situation conduit à penser que pour ces variétés il existerait une condition d'"hétérozygotie fixée" explicable par la présence de deux gènes dupliqués chez une espèce à structure allotétraploïde comme *C. arabica*.

D'après cette hypothèse les individus ayant trois bandes représenteraient deux structures génotypiques différentes. D'une part, les "hétérozygotes fixés", caractérisés par une descendance uniforme formée d'individus à trois bandes homozygotes par les 2 gènes concernés. D'autre part, les hétérozygotes "vrais", qui sont les géniteurs dont les descendance ségrégent en individus à une ou trois bandes ; dans la population H de T., l'origine 1343 est la seule ayant des individus de ce type. Cela confirme la diversité de cette origine (voir tableau 2-4).

Par ailleurs, la variation enzymatique des PAC et des PGD ne permet pas de séparer efficacement les origines de l'H. de T. On peut seulement dire que les matériels qui proviennent de l'origine 1343 sont plus variables que ceux de l'origine 2252 qui se comporte comme les variétés de *C. arabica* pour les sept enzymes étudiées.

L'analyse de l'ensemble des zymogrammes indique que les systèmes PAC et PGD ne sont pas suffisants pour éclairer la provenance de l'H. de T. En effet, des zymogrammes comme ceux rencontrés dans l'H. de T. peuvent être aussi bien obtenus par des croisements entre des plantes de l'espèce *C. arabica*, qu'entre des plantes de *C. arabica* et de *C. canephora*. Ceci est confirmé par les zymogrammes obtenus avec les hybrides Arabusta (type 6 pour la PAC et type 2 pour les PGD). Une telle situation ne permet pas d'utiliser l'analyse enzymatique pour préciser la part prise par *C. canephora* dans la création de l'H. de T..

Les résultats de ce travail montrent que pour *C. arabica*, il existe un polymorphisme pour les enzymes PAC et PGD. Cette variation, additionnée à celle qui existe probablement pour l'enzyme PPO (GUEDES et RODRIGUES 1975), porte à trois le nombre de systèmes polymorphes de cette espèce. Sur la base de ces systèmes polymorphes, on peut dire que l'H. de T montre une diversité équivalente à celle de l'espèce *C. arabica*. Cependant ce niveau est faible quand on le compare avec celui qui a été trouvé chez les espèces diploïdes.

## 2ème PARTIE

### VARIATION DES CARACTERES AGRONOMIQUES DE L'HYBRIDE DE TIMOR.

L'Hybride de Timor est l'une des ressources génétiques les plus utilisées actuellement pour l'amélioration de *C. arabica* vis à vis de la résistance à *Hemileia vastatrix*. Les croisements avec des variétés de *C. arabica* ont donné naissance à des matériels aux caractéristiques agronomiques variables, et dans quelques cas, comparables aux meilleures variétés régionales (BETTENCOURT 1983 ; CASTILLO et MORENO 1986 ; CHAVES et al. 1980).

Néanmoins, le potentiel agronomique des introductions disponibles en collections n'a pas été suffisamment évalué. En Angola (BETTENCOURT 1973), au Brésil (MONACO 1977), au Costa Rica (BETTENCOURT 1973), en Inde (VISHVESHWARA et GOVINDARAJAN 1970) et en Tanzanie (FERNIE 1977), des observations ont été effectuées sur des descendances de l'H. de T.. Elles ont montré un mauvais comportement, avec une production faible et une quantité relativement importante de défauts des grains. Cependant, l'information fournie reste très générale, et apporte peu de précisions sur le matériel réellement utilisé.

Une étude intéressante du comportement agronomique de la population originale a été effectuée par GONCALVES et RODRIGUES (1976), dans des conditions de la caféiculture de Timor (utilisation de l'ombrage et d'un niveau moyen de technicité). Dans cette plantation ont été sélectionnées, pour leur résistance à la rouille et pour leur phénotype similaire à celui de *C. arabica*, 60 plantes, dont la production a été contrôlée pendant 11 ans. La moyenne du groupe sélectionné a été de 7,0 kg de café cerises/plante/an, avec une variation entre plantes de 3,0 à 13,0 kg. Ces valeurs

suggèrent que parmi ces plantes proches de l'original, il existe un potentiel important pour la production et une variation qui peut être intéressante pour l'amélioration.

En Colombie, on dispose de ressources génétiques de l'H. de T. distribuées par le CIFC. Ce matériel a été réuni dans un essai établi en 1979 (MORENO 1979) et dont les résultats sont examinés dans cette partie. L'objectif est de faire un bilan comparatif des principales caractéristiques agronomiques des origines de l'H. de T., en mettant l'accent sur leurs valeurs propres et leur variation.

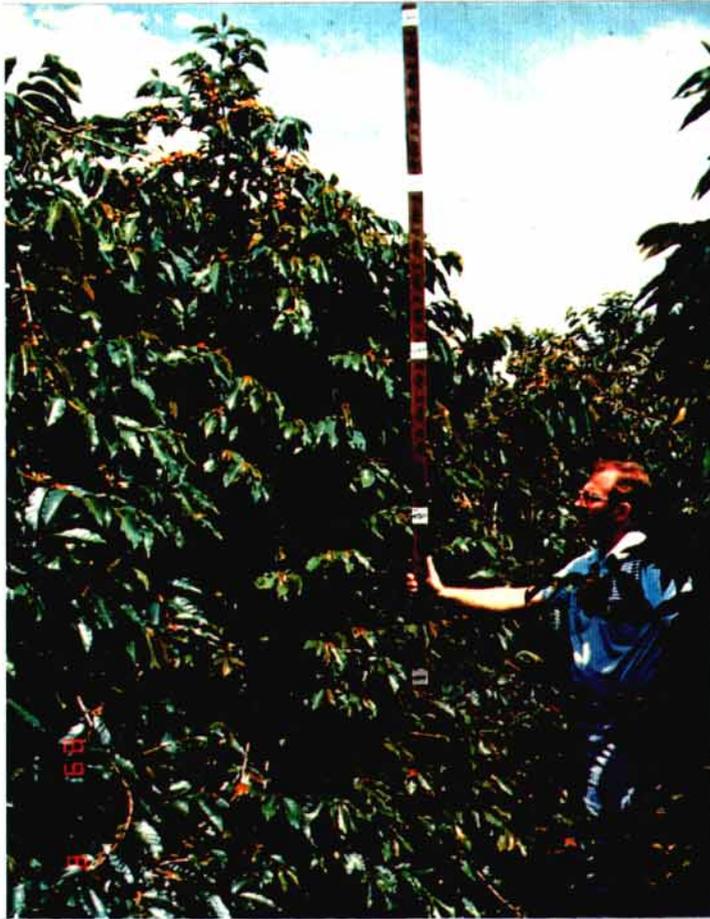
### 1. Matériel végétal utilisé.

Les origines de l'H. de T. envoyées par le CIFC en Colombie à différentes époques (paragraphe 2-2 du chapitre 1), ont été semées directement dans la collection de CENICAFE, à Chinchina. Les descendances évaluées dans ce travail proviennent de graines issues de pollinisation libre et récoltées sur les arbres de la collection. Elles correspondent donc à la génération suivant l'introduction. Au total, 26 descendances ont été évaluées ; leur généalogie figure dans le tableau 2-5. Les variétés cultivées de *C. arabica* constituent les témoins de l'essai :

- \* Typica. C'est la variété traditionnelle de Colombie ; les plantes sont hautes et produisent les grains de la plus grande taille. Sa production est moyenne.
- \* Bourbon. Cette variété est aussi grande ; les plantes sont les plus productives dans les conditions de Colombie, mais les grains sont de petite taille.
- \* Caturra. C'est une variété petite, provenant d'une mutation naturelle probablement dans la variété Bourbon. La taille réduite est déterminée par une paire d'allèles à l'état dominant qui raccourcissent la longueur des entre-noeuds (KRUG et CARVALHO 1951). Elle est très utilisée dans les

TABLEAU 2-5 : Matériel végétal utilisé pour l'étude  
des caractéristiques agronomiques de  
l'H. de T.

GENOTYPE	GENEALOGIE DES DESCENDANCES
H. de T. CIFC 832/1	74/1 161
"	" 162
"	" 261
"	" 262
"	" 263
"	" 266
"	" 267
H. de T. CIFC 832/2	Cl. Mer
H. de T. CIFC 1343	I 566
"	" 567
"	" 570
"	" 572
"	" 575
"	" 576
H. de T. CIFC 2252	I 2943
"	" 2944
"	" 2945
"	" 2946
"	" 2947
"	" 2948
"	" 2949
"	" 2951
"	" 2953
"	" 2964
"	" 2965
"	" 2967
TEMOINS : Typica	
Bourbon	
Caturra	
Catuai	



**PHOTO 1.** Hybride de Timor. Descendance dérivée de l'origine 1343; plantes de 4 ans ayant une hauteur de 3 mètres, semées à Chinchina, Colombie.



**PHOTO 2.** Récolte dans un champ planté avec la variété Caturra, à Chinchina, Colombie.

plantations modernes, où elle permet d'obtenir des productions élevées grâce à des fortes densités de plantation.

\* Catuai. C'est un hybride inter-variétal (Caturra x Mundo Novo), de petite taille, créé au Brésil (CARVALHO et MONACO 1972).

## 2. Méthodologie.

### 2.1 Caractéristiques évaluées.

Pour chaque plante, on a évalué 7 caractéristiques liées à la croissance, la production, les anomalies et la taille des grains. Les caractères mesurés sont les suivants :

- \* Hauteur (H) = mesurée entre la base et l'apex de chaque plante, à 24 mois, en cm.
- \* Diamètre (D) = mesurée entre les extrémités des rameaux primaires, à 24 mois, en cm.
- \* Indice de vigueur (IV) = c'est le produit de la hauteur par le diamètre de chaque plante, en dm<sup>2</sup>.
- \* Production (P) = poids des fruits mûrs récoltés pendant un cycle productif de 5 récoltes, en kg de cerises fraîches par plante et par an.
- \* Fruits vides (V) = on les mesure par le pourcentage de fruits flottants, sur un échantillon de 100 fruits par plante. La méthode s'appuie sur le fait que les fruits flottants possèdent une ou deux loges vides. Ce système est équivalent à l'observation directe des graines après avoir effectué des coupes transversales dans les fruits. Les loges vides sont produites par l'avortement tardif de l'ovule fécondé, qui ralentit la croissance de l'endosperme mais pas celle de la cavité loculaire (MENDES 1946 ; LELIVELD et al. 1969).

- \* Taux de caracoli (C) = on le détermine par l'observation directe d'échantillons de 400 grains par plante. Les grains caracoli apparaissent lorsqu' un des ovules avorte précocement, avec atrophie de la cavité loculaire. La graine restante se développe librement et prend une forme arrondie (MENDES 1946 ; LELIVELD et al. 1969).
- \* Granulométrie (G) = cet index permet de déterminer le "café suprême". Il correspond au pourcentage pondéral d'un échantillon de 100 grammes de semences déparchées à 11 % d'humidité, qui est retenu par un tamis avec des perforations rondes de 6.7 mm de diamètre.

## 2.2. Dispositif expérimental et analyse de l'information.

Les plantes ont été mises en essai en 1979 à Gigante, Huila, Colombie. Le dispositif expérimental retenu est le système des blocs randomisés avec deux répétitions, sept plantes par parcelle et une densité de plantation de 2666 plantes/ha.

Les données ont été analysées en considérant les variables séparément (analyses univariées) puis simultanément (analyses multivariées).

Pour les analyses univariées on a exploité l'analyse de la variance. La variation entre origines a été testée en utilisant 6 descendances prises au hasard par introduction. Les origines contenant moins de 6 descendances n'ont pas été prises en compte ; dans le cas de l'origine 2252 leurs 12 descendances ont été séparées en deux groupes. En revanche, la variation intra- origines, c'est-à-dire entre descendances, a été étudiée en incluant toutes les descendances dans les analyses. Dans ce cas, les moyennes des descendances ont été comparées avec celles du témoin Typica par le test de Dunnet.

Pour les analyses multivariées, on a utilisé la méthode d'analyse en composantes principales (ACP). Dans les matrices ou tableaux traités les individus actifs sont les moyennes des descendances pour chaque variable. Les valeurs de chaque plante sont projetées en individus supplémentaires. Les coordonnées des individus actifs sur les nouvelles composantes ont permis la comparaison des origines et des

descendances par l'analyse de la variance. En revanche, les nouvelles coordonnées des individus supplémentaires ont servi à classer toutes les plantes au moyen de la technique de classification ascendante hiérarchique. L'appartenance aux groupes définis a été testée par une analyse factorielle discriminante.

### **3. Résultats.**

#### **3.1. Etude de la variation inter et intra-origines de chacun des caractères.**

Pour chaque caractère nous avons analysé la variation due aux origines et aux descendances à l'aide d'un modèle partiellement hiérarchisé à 3 critères : répétitions, origines et descendances, où le premier est croisé avec les deux autres. La variation des origines et des descendances a été considérée comme ayant des effets fixe et aléatoire, respectivement. Ces analyses ont montré des différences significatives entre origines de l'H. de T. pour quelques caractères (Tableau 2-6) : le diamètre des plantes (D), la quantité de fruits vides (V), de graines caracoli (C) et la taille des graines (G). En revanche, les origines ne se distinguent pas pour la hauteur (H), l'indice de vigueur (IV) et la production par plante (P).

Pour la plupart des caractères, les origines 832-1 et 1343 sont identiques, sauf pour la quantité de grains caracoli (11,7 % pour 832-1 et 23,3 % pour 1343) et de café suprême (66,3 % pour 832-1 et 59,0 % pour 1343). L'origine 2252 possède des valeurs moyennes inférieures à celles des deux autres origines pour les caractères diamètre, fruits vides et granulométrie.

Pour toutes les origines, on observe des coefficients de variation (CV) élevés, parfois supérieurs à 100 %. Par rapport au témoin Typica, on note une tendance des différentes origines à avoir des CV supérieurs. Dans quelques cas, par exemple pour les grains caracoli et pour la production, l'ensemble des origines présente des CV respectivement 3,5 et 2,2 fois plus grands que celles de Typica. L'origine 1343 montre les plus forts coefficients de variation alors que l'origine 2252 présente les plus faibles.

**TABLEAU 2-6. MOYENNES ( $\bar{x}$ ) ET COEFFICIENTS DE VARIATION (CV) DES CARACTERISTIQUES AGRONOMIQUES DE L'HYBRIDE DE TIMOR ET DES VARIETES TEMOINS.**

Géotypes	Diamètre (D) cm		Hauteur (H) cm		Indice de Vigueur ( $\frac{IY}{2}$ ) (dm)		Production ( $\frac{P}{pl}$ ) kg/pl		Fruits vides (%)		Grains caracoli (%)		Café suprême (%)	
	$\bar{x}$	CV%	$\bar{x}$	CV%	$\bar{x}$	CV%	$\bar{x}$	CV%	$\bar{x}$	CV%	$\bar{x}$	CV%	$\bar{x}$	CV%
H de T. 832.1	186 b	21,5	214 a	10,5	402 a	28,4	8,1 a	60,2	5,3 b	109,9	11,7 a	61,7	66,3 c	47,5
H de T. 1343	193 b	15,1	216 a	17,4	422 a	30,3	9,1 a	46,7	5,1 b	71,7	23,3 c	102,1	59,0 b	71,5
H de T. 2252 A	171 a	13,0	212 a	14,9	365 a	22,5	7,9 a	56,3	3,1 a	74,7	16,2 b	57,0	44,2 a	51,2
H de T. 2252 B	175 a	14,9	220 a	13,7	386 a	22,0	8,2 a	44,8	3,2 a	105,5	12,5 a	101,9	46,4 a	44,5
(F)	$\bar{x} =$	16,1		14,1		25,8		52,0		90,4		80,6		53,6
Inter Origines	2) *		N.S.		N.S.		N.S.		*		*		*	
Typica	187	13,2	233	7,2	440	18,8	10,0	23,5	3,2	98,7	5,8	40,9	72,9	15,1
Bourbon	187	8,7	213	8,5	401	12,6	13,0	26,9	2,7	55,9	10,5	107,6	49,5	19,3
Caturra	150	7,5	162	9,7	246	16,2	9,9	22,3	2,8	36,9	6,4	21,9	67,0	13,7
Catuai	151	10,0	155	10,8	236	18,5	9,1	27,7	2,8	45,9	7,6	31,8	67,8	16,1
	$\bar{x} =$	9,8		9,0		16,5		25,1		59,3		50,5		16,0

1) Les moyennes avec la même lettre sont statistiquement égales (test de Newman-Keuls)

2) \* : F significatif pour P = 95 %  
NS : F non significatif

Cependant, pour l'ensemble de caractères, l'origine n'a pas une influence très marquée sur les coefficients de variation.

D'autre part, pour préciser la variation intra-origine, c'est à dire, entre les descendances d'un même origine, on a réalisé des analyses univariées sur les données plante à plante. Les résultats de ces analyses montrent des différences hautement significatives entre descendances pour tous les caractères analysés. Dans l'annexe 3, on présente la moyenne et le coefficient de variation par caractère et par descendance, et dans le tableau 2-7, sont affichés les résultats de la comparaison entre les descendances de l'H. de T. et la variété Typica.

Pour les caractères concernant la croissance des plantes, le témoin Typica présente les moyennes suivantes: Diamètre 187 cm, Hauteur 233 cm et Indice de vigueur 440 dm<sup>2</sup>. Les descendances ne diffèrent pas du témoin, sauf dans le cas de la hauteur où 4 descendances présentent des moyennes inférieures. Pour la production, 16 descendances ont des moyennes équivalentes à celle de Typica (10 Kg/pl.), et les 10 autres ont des moyennes inférieures. Seulement 3 descendances de l'H. de T. possèdent des quantités de fruits vides supérieures à la moyenne de Typica (3,2 %) ; dans les autres cas, les moyennes des descendances sont semblables. Quinze descendances de l'H. de T. produisent plus de grains caracoli que le Typica (5,8 %), tandis que les 11 autres ont des taux identiques. Finalement, la quantité de café suprême est équivalente à celle du témoin Typica (73 %) dans douze descendances ; dans les autres, la taille du grain est inférieure.

Si on compare les provenances, l'origine 2252 est celle où les descendances cumulent le maximum de défauts : faible production, fort taux de caracoli et de petits grains. Viennent ensuite l'origine 832-1, qui donne des plantes de faible production, et l'origine 832-2 dont les descendants sont caractérisés par des forts pourcentages de caracoli. En revanche, l'origine 1343 donne la proportion la plus importante de plantes intéressantes, bien que le taux de caracoli soit relativement important.

Au niveau des descendances, les chiffres du tableau 2-7 montrent chez certaines une variabilité supérieure à celle de la variété Typica: ceci est observé pour 16

**TABLEAU 2-7** COMPARAISON POUR QUELQUES CARACTERES AGRONOMIQUES, DES DESCENDANCES DE L'HYBRIDE DE TIMOR AVEC LA VARIETE TYPICA.

CARACTERES	VARIETE TYPICA		HYBRIDE DE TIMOR							
	MOYENNE	VARIANCE	ORIGINE	DESC. TESTEES Nb.	CLASSEMENT DES DESCENDANCES					
					MOYENNE (a)			VARIANCE (b)		
					» (c)	=	«	»	=	«
DIAMETRE (cm)	187	664,42	832-1	7	7			6	1	
			832-2	1	1			1		
			1343	6	6			6		
			2252	12	12			11	1	
HAUTEUR (cm)	233	310,02	832-1	7	7			7		
			832-2	1	1			1		
			1343	6	4	2	1	5		
			2252	12	10	2		12		
INDICE VIGUEUR (dm <sup>2</sup> )	440	7378,25	832-1	7	7			6	1	
			832-2	1	1			1		
			1343	6	6			6		
			2252	12	12			12		
PRODUCTION (kg/pl)	10,0	6,04	832-1	7	3	4	1	6		
			832-2	1	1			1		
			1343	6	5	1	1	5		
			2252	12	7	5		11	1	
FRUITS VIDES (%)	3,2	10,70	832-1	7	1	6	1	2	4	
			832-2	1	1			1		
			1343	6	2	4		4	2	
			2252	12	12			1	2	9
GRAINS CARACOLI (%)	5,8	6,22	832-1	7	2	5	2	5		
			832-2	1	1			1		
			1343	6	5	1	5	1		
			2252	12	7	5	9	3		
CAFE SUPREME	73,0	130,98	832-1	7	6	1		7		
			832-2	1	1			1		
			1343	6	3	3		3	3	
			2252	12	2	10	2	10		

- a) Différence entre la moyenne de chaque descendance et celle de la variété Typica, mesurée par le test de Dunnett.
- b) Différence entre la variance de chaque descendance et celle de la variété Typica, mesurée par le test de F.
- c) Moyenne ou variance supérieure (»), égale (=) ou inférieure («), par rapport à celle de la variété Typica.

descendances en ce qui concerne le caractère caracoli. Pour les caractères hauteur, production, fruits vides et granulométrie, là encore quelques descendances présentent une diversité supérieure à celle du témoin. Pour les autres caractères, la plupart des descendances présentent des variations équivalentes à celle de Typica, sauf dans quelques cas où elles sont inférieures, notamment pour le caractère fruits vides.

Les variances inter-origines, intra-origines et résiduelle (respectivement  $\sigma^2_o$ ,  $\sigma^2_d$  et  $\sigma^2_r$ ) ont été estimées à partir des espérances mathématiques des carrés moyens obtenus lors de l'analyse de variance d'un modèle partiellement hiérarchisé. Nous avons ensuite calculé des indices semblables au coefficient de corrélation intra-classe de la manière suivante:

$$I_o = \frac{\sigma^2_o}{\sigma^2_o + \sigma^2_d + \sigma^2_r}$$

$$I_d = \frac{\sigma^2_d}{\sigma^2_o + \sigma^2_d + \sigma^2_r}$$

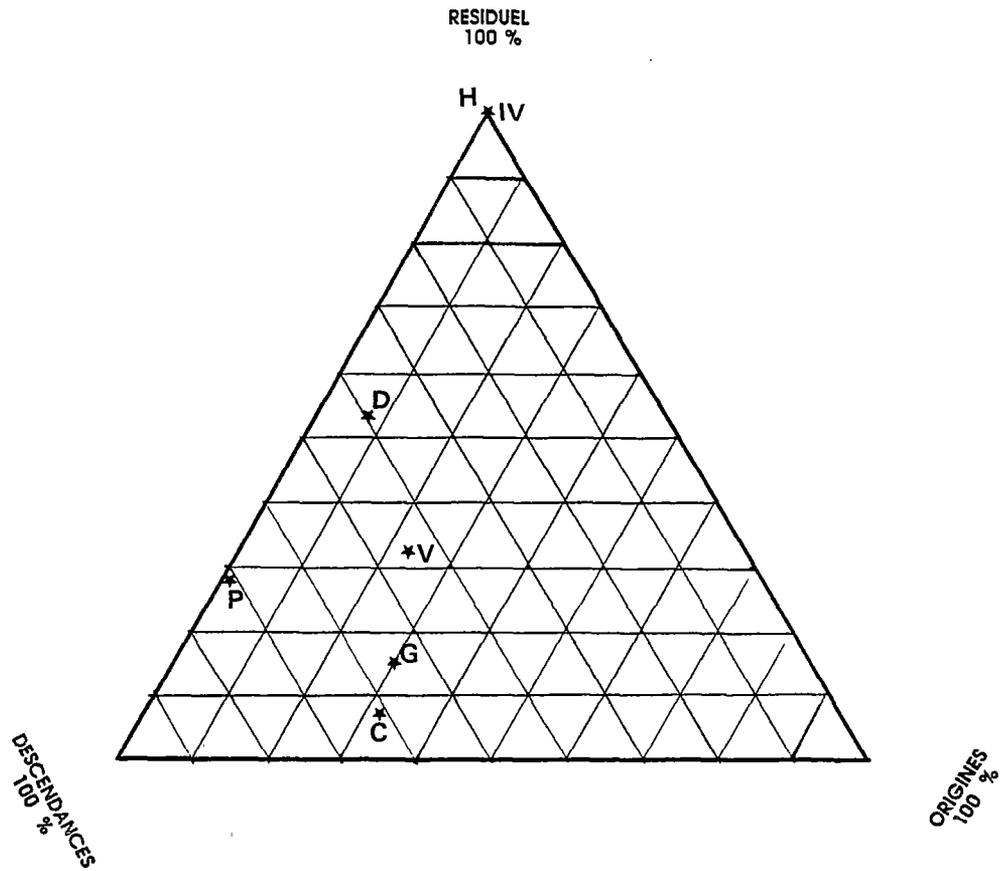
$$I_r = \frac{\sigma^2_r}{\sigma^2_o + \sigma^2_d + \sigma^2_r}$$

Ces indices représentent la contribution de chacune des composantes à la diversité de chaque caractère (tableau 2-8).

La contribution relative de chacune des composantes à la variabilité est représentée graphiquement pour chaque caractère (fig. 2-3). Nous pouvons déduire de cette figure que pour le caractère fruits vides les trois composantes interviennent de façon presque égale. Pour les caractères granulométrie et caracoli ce sont les effets origines et descendances qui dominent, alors que pour les caractères production et diamètre les variances inter- et intra descendances sont les plus importantes. Enfin, dans le cas des caractères hauteur et indice de vigueur la diversité intra-descendances couvre la variabilité totale.

**TABLEAU 2-8** : Contribution de chaque composant à la variance générale de plusieurs caractéristiques agronomiques chez la population Hybride de Timor

CARACTERE	VARIANCE GENERALE		CONTRIBUTION (%) DE CHAQUE COMPOSANT A LA VARIANCE GENERALE		
	VALEUR	%	ORIGINES (I <sub>o</sub> )	DESCENDANCE (I <sub>d</sub> )	VAR. RESIDUELLE (I <sub>r</sub> )
Diamètre (D)	185.360	100.00	6.1	40.7	53.8
Hauteur (H)	122.090	100.00	0.0	0.0	100.0
Indice de vigueur (IV)	481.000	100.00	0.0	0.0	100.0
Production (P)	3.723	100.00	0.0	72.6	27.3
Fruits vides (V)	4.072	100.00	22.4	44.7	32.9
Grains caracoli (C)	61.633	100.00	30.2	59.4	10.4
Café suprême (G)	251.140	100.00	28.7	54.8	16.5



**Figure 2-3.** Représentation graphique de la contribution à la variation totale des effets "origines", "descendances" et "résiduelle" sur des caractères agronomiques évalués dans la population Hybride de Timor.  
 C = Caracoli ; D = Diamètre ; G = Granulométrie ; H = Hauteur ; IV = Indice de vigueur ; P = Production ; V = Fruits vides.

### 3.2. Analyse multivariée des composantes de la diversité.

La variation des caractères évalués peut s'expliquer avec un système de trois composantes principales (voir les résultats de l'ACP en annexe 4).

La première composante, ou facteur 1, a une inertie de 46 % ; elle est corrélée avec les variables indice de vigueur, diamètre et production, la première étant la plus importante. Ce facteur représente la vigueur qui sépare les génotypes.

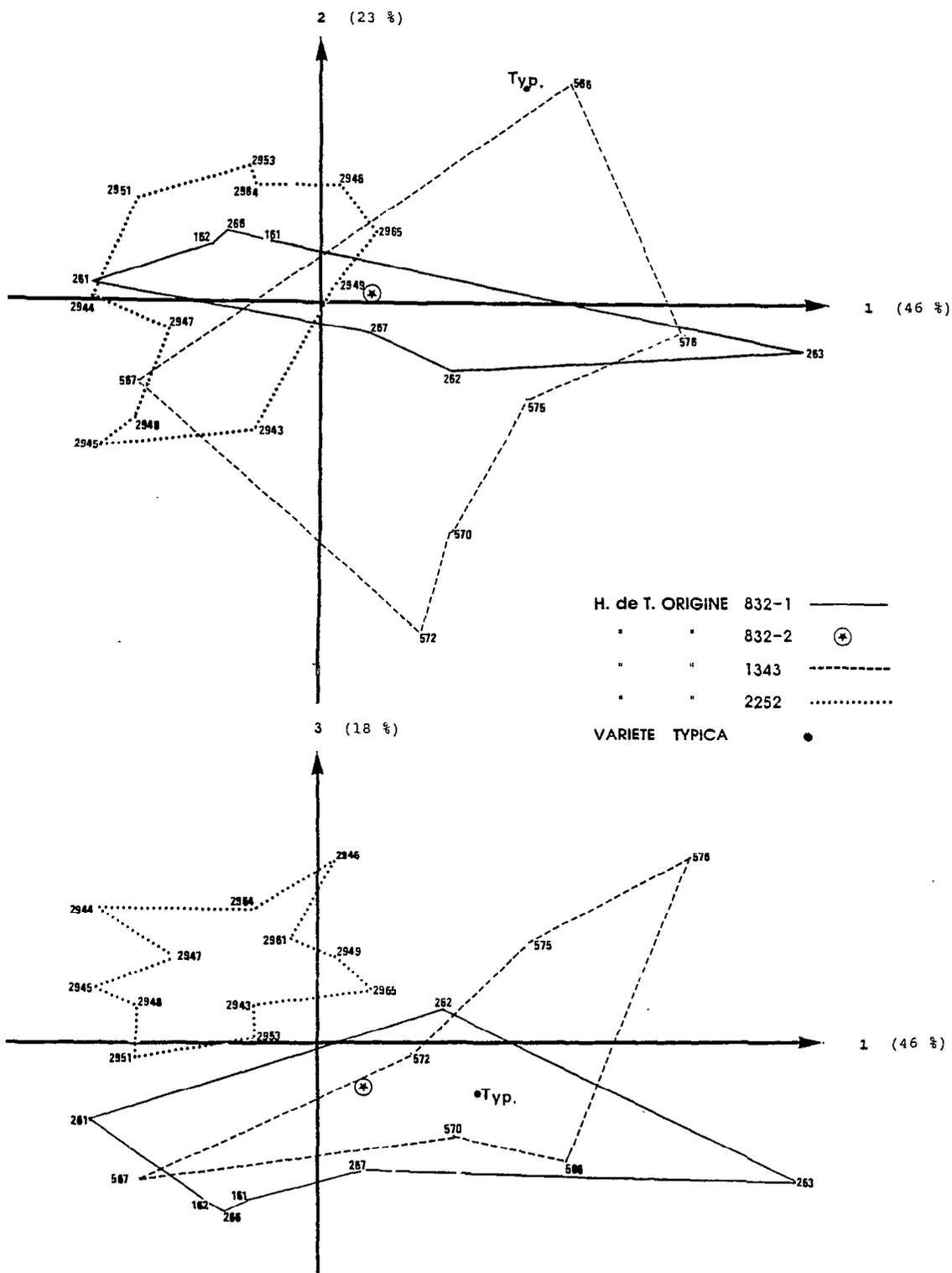
Le deuxième facteur a une inertie de 23 %. Les variables qui y contribuent majoritairement sont les grains caracoli, la hauteur et les fruits vides. Ce facteur mesure la fertilité des plantes. En effet, les grains caracoli et les fruits vides sont considérés comme des composantes de la stérilité. Ces deux défauts sont liés à divers causes internes et/ou externes qui affectent leur intensité (CARVALHO et MONACO 1969 ; LELIVELD et al. 1969 ; DUBLIN 1962 ; ANTUNES et CARVALHO 1954 ; ANTUNES 1953 ; FERWERDA, 1948). Certains auteurs les relient plus précisément avec la fertilité gamétique (grains caracoli) et avec la fertilité zygotique (fruits vides) (YAPO 1987 ; LE PIERRES et CHARMETANT 1985 ; GRASSIAS 1980). Sur l'axe de fertilité, s'opposent les génotypes avec un fort taux de caracoli, fruits vides et plantes de taille réduite d'une part, et les génotypes avec caractéristiques contraires d'autre part.

Le troisième facteur a une inertie de 18% et correspond principalement à la variable G qui mesure la taille des graines. L'axe correspondant peut être défini comme un axe de granulométrie.

Grâce à ces résultats, on peut condenser les sept caractères évalués en trois variables factorielles : la vigueur et la fertilité des plantes, la taille des grains. Avec les plans vigueur-fertilité (1-2) et vigueur-granulométrie (1-3), on peut expliquer respectivement 69 % et 64 % de la variation totale.

#### 3.2.1. Comparaison des origines de l'H. de T. par l'ACP.

Dans le plan vigueur-fertilité (Fig. 2-4), c'est l'origine 1343 qui présente la plus grande variabilité. En effet, cette origine a fourni des descendance situées dans les



**Figure 2-4.** Représentation des descendance de l'Hybride de Timor issues de différentes origines, et de la variété Typica, dans les plans définis par les axes 1-2 (vigueur - fertilité) et 1-3 (vigueur-granulométrie), par l'analyse en composantes principales (ACP).

zones de faible (I-576) et de grande (I-567) vigueur végétative et de forte (I-566) et faible (I-572) fertilité. Située près du témoin Typica, la descendance I-566 combine des caractéristiques supérieures de vigueur et de fertilité. L'origine 2252 présente une dispersion de valeur intermédiaire. Ses descendances sont moyennes à faibles, tant pour la vigueur que pour la fertilité. En général, c'est l'origine qui présente la vigueur la plus faible. Aucune de ses descendances ne présente de bonnes valeurs de vigueur et de fertilité. Les descendances dérivées de la plante 832-1 sont celles qui montrent la plus grande dispersion pour la vigueur et la plus faible variation pour la fertilité. Pour cette dernière caractéristique, ces descendances sont moyennes. Il n'existe pas de descendance qui combine les meilleures caractéristiques sur les deux axes à la fois. La seule descendance provenant de la plante 832-2 se situe près de l'origine des coordonnées, ce qui indique un comportement moyen par rapport aux facteurs 1 et 2.

Sur le plan vigueur-granulométrie (Fig. 2-4), les origines de l'H. de T. forment des groupes bien définis. D'un côté, se situe l'origine 2252 avec ses descendances localisées dans la zone correspondant aux valeurs moyennes à faibles. Aucune de ses descendances n'est située dans la zone des génotypes supérieurs. De l'autre côté, on trouve les origines 1343, 832-2 et 832-1. L'origine 1343 montre une variation importante avec des descendances vigoureuses à gros grains (descendance I-566) ou à petits grains (descendance I-576). Les descendances de la plante 832-1 présentent plus de variation pour la vigueur que pour la taille des grains, qui est relativement grande. La descendance issue de la plante 832-2 se situe dans la zone moyenne des deux axes.

Si on considère la dispersion dans les deux plans comme une mesure de la variation, les origines de l'H. de T. qui présentent le plus et le moins de variabilité sont respectivement les origines 1343 et 2252. Par comparaison, les descendances issues des plantes 832-1 et 832-2 présentent un niveau moyen de variation.

### 3.3. Effet de la sélection sur les variables factorielles.

Pour chacune des variables factorielles prises séparément (vigueur, fertilité et granulométrie), nous avons appliqué une classification hiérarchique et reconnu trois groupes bien individualisés (tableau 2-9) :

- pour la vigueur (F1), le groupe très vigoureux renferme 69 plantes. Par rapport à la population originale il représente un gain important pour les caractéristiques de croissance, mais surtout de production (45 %). Toutefois, les défauts liés aux grains caracoli et vides ont aussi augmenté.
- pour la fertilité (F2), le groupe de plantes très fertiles contient 106 individus. Il montre des changements positifs pour la production (21 %) corrélatif à une diminution importante du taux de caracoli (38 %).
- pour la granulométrie (F3), le meilleur groupe (48 plantes) montre une augmentation de taille de 39 %, mais aussi un effet sur le taux de caracoli qui diminue de 25 %. En revanche, on constate un effet négatif sur la production (27 %).

Avec une sélection simultanée sur la vigueur, la fertilité et la granulométrie (respectivement facteurs F1, F2 et F3), on forme un groupe de 15 plantes (4,1 % de la population totale) pour lequel les changements sont positifs et importants pour la plupart des caractéristiques. On observe une augmentation de la production/plante (47 %), de la taille des grains (43 %) et une diminution des taux de caracoli (26 %) tandis que le taux de fruits vides est resté inchangé. Ce groupe est constitué de la façon suivante :

- 7 plantes provenant de 4 descendance de l'origine 832-1;
- 1 plante de l'origine 832-2 ;
- 5 plantes provenant d'une descendance de l'origine 1343;
- 2 plantes provenant de deux descendance de l'origine 2252.

**TABLEAU 2-9** : Evolution des caractéristiques d'intérêt agronomique de la population de l'Hybride de Timor sélectionnée grâce aux variables factorielles F1, F2 et F3.

POPULATION	Nb pl	INDICE VIGUEUR		DIAMETRE		HAUTEUR		PRODUCTION		FRUITS VIDES		GRAINS CARACOLI		CAFE SUPREME	
		$\bar{x}$	%	$\bar{x}$	%	$\bar{x}$	%	$\bar{x}$	%	$\bar{x}$	%	$\bar{x}$	%	$\bar{x}$	%
H.T. (sans sélection)	364	394	100	181	100	215	100	8,2	100	4,2	100	15,8	100	55,2	100
H.T. sél. dans F1	69	506	128	214	118	236	109	11,9	145	7,0	166	20,0	126	59,6	107
H.T. sél. dans F2	106	433	109	185	102	233	108	10,0	121	2,9	69	9,9	62	63,0	114
H.T. sél. dans F3	48	358	90	175	96	201	93	6,0	73	7,4	176	11,9	75	76,7	139
H.T. sél. dans F1, F2, F3	15	499	126	206	113	242	112	12,1	147	4,5	107	11,8	74	79,0	143

Ces résultats montrent que la sélection sur les variables factorielles produit des groupes de plantes aux caractéristiques différentes selon la variable utilisée. L'emploi simultané de toutes les variables factorielles permet la sélection de plantes agronomiquement supérieures. Dans toutes les origines, on peut repérer des plantes de ce type, bien que la proportion soit variable selon les origines.

#### 4. Discussion.

L'analyse des caractères agronomiques considérés séparément, indique que l'H. de T. est une population hétérogène avec des variations inter- et intra-origines. Si on compare ces deux effets, la variation intra-origines, c'est à dire, inter-descendances, est la plus importante.

En général, l'origine 1343, la plus variable, possède les génotypes agronomiquement les plus intéressants. A l'inverse, l'origine 2252, plus homogène, présente le plus petit nombre de caractères intéressants. Par rapport à ces deux origines, les descendants des origines 832-1 et 832-2 sont intermédiaires.

Les caractéristiques de la variété *Typica* représentent les limites que l'on peut attendre d'une sélection chez l'H. de T.. Plusieurs descendances sont semblables à cette variété lorsque les caractères sont considérés séparément. Si les caractères sont pris ensembles, seule une descendance, issue de l'origine 1343, se distingue. Ceci met en évidence l'avantage de faire une sélection plurifactorielle.

Les sources de variabilité des caractères étudiés (origines, descendances et variance résiduelle) participent différemment à la variation générale. L'effet inter-descendances est responsable de la plus grande partie de la variation. Ceci a été observé sur 5 des 7 caractères évalués (diamètre, fruits vides, caracoli, granulométrie et production). Dans le cas où la composante "origine" a une importance relativement forte (fruit vides, caracoli et granulométrie), la sélection vise à rechercher la meilleure origine et ses meilleures descendances. Pour plusieurs caractères, la participation des origines à la variabilité générale est très faible ou nulle, bien que les différences sont parfois

significatives. Dans ce cas (caractères diamètre, hauteur, indice de vigueur et production), la sélection doit mettre l'accent sur les seules descendance, sans prendre leur provenance en considération.

Pour quelques caractères (hauteur, indice de vigueur), la variabilité intra-descendance est la seule source de variation et pour d'autres (diamètre, fruits vides, et production), elle représente une part des plus importantes de la variation générale. Cette variabilité intra-descendance est due à la variation conjuguée du milieu et entre plantes. En considérant le niveau d'hétérogénéité de l'H. de T., on suppose qu'une partie importante de la variation entre plantes est de nature génétique. Cette situation est plus évidente pour les caractères dont la variance intra-descendance est statistiquement supérieure à celle du témoin *Typica*, lignée pure considérée comme génétiquement homogène. Dans ce cas, on espère une réponse positive à la sélection des individus les plus remarquables.

En résumé, nous pouvons conclure que les renseignements obtenus sur les caractéristiques des origines et sur leurs descendance permettent de déterminer le vrai potentiel de l'H. de T. pour chaque caractère afin d'orienter la sélection. Cependant, l'intérêt principal de l'H. de T. n'est pas son utilisation directe dans la caféiculture, mais le transfert de ses caractéristiques aux variétés de *C. arabica* par hybridation. De ce fait, l'identification des individus les plus performants est l'aspect prioritaire atteint grâce aux analyses multivariées.

Un avantage important de celles-ci est la mise en évidence des associations de caractères. En ce qui concerne la première variable factorielle (F1), les résultats montrent dans la population de l'H. de T., que la variable mesurant la vigueur est corrélée positivement avec le diamètre des plantes, leur production et leur hauteur. Par conséquent, la sélection basée sur ce facteur a pour résultat immédiat une augmentation simultanée de plusieurs caractéristiques : plus grande hauteur ; plus grand diamètre ; plus grand nombre de rameaux primaires ; plus grand nombre d'entre-noeuds ; plus grande productivité. Une telle association positive entre les caractères de croissance et la production avait été observée par LE PIERRES et CHARMETANT (1985) et

par YAPO (1987) chez les Arabusta et pourrait être le cas général chez les caféiers de grande taille.

Pour ce premier facteur également, on observe une association positive entre vigueur-production et fruits vides pour laquelle nous n'avons pas d'explication claire. Cependant cette association ne paraît pas avoir de conséquences graves car le pourcentage de fruits vides reste relativement faible (4,2 %) dans l'échantillon de H. de T. analysé.

La sélection sur la variable factorielle F2 conduit à une amélioration de toutes les caractéristiques, ce qui s'explique par les corrélations existantes entre les variables. Les résultats de l'ACP indiquent que les variables caracoli, fruits vides et diamètre d'une part, hauteur, production et granulométrie d'autre part, sont inversement corrélées. Il est probable que chez l'H. de T., les plantes les moins vigoureuses et les moins productives présentent des problèmes de stérilité gamétique et/ou zygotique, dus à l'origine interspécifique probable de l'H. de T. Dans ce cas, la sélection sur la variable factorielle F2 diminue les défauts des grains, surtout le taux de grains caracoli, et simultanément, augmente la production et la taille des grains. Cette amélioration générale des caractéristiques agronomiques, s'interprète comme une sélection en faveur de la fertilité des plantes.

En sélectionnant seulement pour la troisième variable factorielle, principale responsable de la granulométrie, on obtient les résultats les moins intéressants. Ces résultats sont dus à une liaison négative dans la population de l'H. de T., entre la taille des grains et la production. Il est probable que dans cette population, il existe une sorte d'antagonisme entre la quantité de semences produites par une plante et la taille de ces semences. Ceci est un aspect important à considérer dans les programmes d'amélioration orientés vers la sélection séparée de la taille des grains et de la production, spécialement si ce type d'association est de nature physiologique.

A l'aide de la sélection sur facteurs nous pouvons identifier les individus les plus performants pour plusieurs caractères à la fois. Ces individus devront être choisis comme géniteurs dans les programmes d'hybridation avec *C. arabica*. Le succès de ces

programmes dépendra de l'importance de la composante génétique de la variabilité et de l'héritabilité des caractères. Cependant, les résultats obtenus suggèrent que les limites atteintes par la sélection dans l'H. de T. sont proches des caractéristiques de la variété Typica. Mais si cette limite est intéressante pour les caractères du grain, elle l'est beaucoup moins pour la production. En effet, celle-ci ne représente en effet que 70 % de la production de la variété Bourbon, considérée comme hautement productive.

Une manière d'améliorer la production dans le matériel issu des croisements avec l'H. de T., serait d'utiliser comme géniteurs les meilleurs individus choisis parmi la population H. de T., en mettant l'accent sur les caractères associés à la production. Dans la population analysée, la sélection des individus les plus productifs pourrait être envisagée par différentes voies. Comme l'indiquent les résultats, ce caractère est sur la dépendance des trois composantes principales. Par exemple, on pourrait identifier les meilleurs individus par la sélection des plantes les plus vigoureuses, les plus fertiles ou celles qui présentent le meilleur équilibre entre la granulométrie et la production. Sans doute, les meilleurs résultats s'obtiennent quand on utilise les trois variables factorielles simultanément. Dans ce cas, on obtient un groupe de génotypes élités qui doivent être employés préférentiellement dans les programmes de croisements.

## CHAPITRE 3

### RESISTANCE INCOMPLETE A LA RACE II D'*H. vastatrix* CHEZ LES DESCENDANCES ISSUES DE CROISEMENTS ENTRE *C. arabica* ET L'HYBRIDE DE TIMOR.

Dans le chapitre 1 nous avons traité quelques aspects généraux relatifs à la résistance génétique aux maladies, et en particulier à la rouille orangée du caféier. Nous présentons maintenant les résultats d'une évaluation de la résistance incomplète à cette maladie. Nous décrivons aussi la méthode que nous avons utilisée pour étudier l'évolution des infections monocycliques d'*H. vastatrix* dans des descendances hétérogènes composées par de nombreux individus. La mise au point de cette méthodologie était une condition indispensable pour atteindre l'objectif principal fixé : mesurer la variation de la résistance des descendances sensibles à la race II d'*H. vastatrix* chez les générations avancées (F6) du croisement Caturra x H. de T. et dans les premières générations du croisement Caturra x C-387.

#### 1. Evaluation de la résistance incomplète.

Cette évaluation requiert une méthodologie qui permet la quantification de l'information et l'analyse statistique des données.

Dans les conditions de laboratoire, des inoculations artificielles peuvent être faites sur des feuilles détachées (LEGUIZAMON 1983) ou sur des disques de feuilles (ESKES 1983). Ces inoculations sont réalisées soit en utilisant une quantité connue d'inoculum qui

peut être appliquée par pulvérisation, soit par le dépôt de gouttes de concentration connue (ESKES 1983 ; LEGUIZAMON 1983 ; BETTENCOURT et RODRIGUES 1988).

Pour l'évaluation de la résistance incomplète, les différents symptômes de la maladie, supposés représentatifs de la croissance et du développement du pathogène, sont examinés. La mesure est faite au moyen des échelles d'évaluation qui reflètent les états de la maladie. Ces échelles ont été conçues pour mesurer le type de réaction (ESKES 1983), ou le type de lésion (LEGUIZAMON 1983). Dans la première, une échelle de notation allant de 0 à 9 est utilisée. Dans la deuxième, on sépare les taches en 7 catégories qui permettent de suivre l'évolution de la maladie au cours du temps.

D'autres paramètres ont été utilisés pour l'évaluation de la résistance incomplète. D'après PARLEVLIE (1979), les paramètres ou composantes de la résistance incomplète les plus importants sont : i) l'efficacité de l'infection, considérée comme la quantité de lésions visibles par rapport à la quantité d'inoculum utilisé ; ii) la période de latence, représentée par le temps entre l'inoculation et la sporulation de 50 % des lésions sporulantes ; iii) la production de spores, mesurée par la quantité de spores produites par lésions sporulantes, dans une période déterminée ; iv) la période d'infection, équivalente à la durée de la sporulation. A partir de ces paramètres, nous pouvons en déduire d'autres qui sont parfois utilisés dans les études de résistance incomplète chez le caféier : début de la sporulation, période d'incubation, quantité de taches chlorotiques sporulantes, proportion de taches sporulantes, index d'intensité de la maladie, etc... (ESKES 1989 ; BETTENCOURT et RODRIGUES 1988).

D'autre part, dans le cas des infections monocycliques, la réponse des génotypes à des inoculations peut être analysée en considérant l'information provenant soit d'un moment déterminé du cycle infectieux (évaluation statique), soit de toute la période de la maladie (évaluation dynamique). Dans le premier cas, les données de chaque paramètre relatives à un moment déterminé, par exemple le dernier jour, sont soumises à des analyses statistiques. Ce système d'analyse a été utilisé dans la plupart des études déjà réalisées. Pour la mesure de la maladie pendant la période comprise entre l'infection et la sporulation, GIL (1988), BIEYSSE (1985) et LEGUIZAMON (1983) ont

représenté l'évolution de la maladie par une courbe logistique. Les valeurs correspondantes à l'asymptote supérieure, au point d'inflexion et à l'asymptote inférieure sont employées pour différencier les géotypes.

Nous pouvons en résumé dire que le choix des paramètres et de la méthode d'analyse des données, dépend des objectifs de chaque étude, de la précision souhaitée, des conditions dans la suivi des manipulations et de la quantité d'observations faites.

## **2. Matériel utilisé.**

### 2.1. Le matériel végétal.

Comme matériel végétal, nous avons utilisé des plantules en provenance de Colombie. Elles ont été cultivées en serre sur du terreau MOTEX, à une température de 20 à 30° et une humidité relative variant de 50 à 90 %. Ce matériel est issu des semences obtenues en fécondation libre et récoltées sur des plantes jugées sensibles à *H. vastatrix* race II au cours des essais expérimentaux de CENICAFE, Colombie. Dans le tableau 3-1, nous présentons la liste du matériel végétal testé, lequel peut être classé de la manière suivante :

- 15 descendances F6 dérivées du croisement fait en Colombie entre la variété Caturra et l'origine H. de T. 1343.
- 1 descendance F4 issue d'un croisement réalisé au CIFC (Portugal) entre l'Hybride de Timor 832/1 et la variété Caturra. Des plantules F2 de ce croisement ont été envoyées en Colombie, où la sélection s'est poursuivie.
- 3 descendances F2 obtenues par des croisements réalisés en Colombie entre la variété Caturra et l'origine nommée C-387.
- Des plants de la variété Caturra ont été utilisés comme "témoin sensible".

**TABLEAU 3-1** : Matériel végétal utilisée lors des mesures de la résistance incomplète à *Hemileia vastatrix*, race II

CROISEMENT ORIGINEL	GENEALOGIE					GENERATION TESTEE A MONTPELLIER	IDENTIFICATION
	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5		
	AR 1322	PL 1372	A 240	L 665	BH 934	F6	61
	"	PL 1378	A 293	N 157	BH 1221	"	62
	"	"	"	"	BH 1222	"	63
	"	"	"	L 490	BI 71	"	71
	"	"	"	"	BI 74	"	73
	"	"	"	"	BI 76	"	75
Caturra	"	"	"	"	BI 79	"	77
x	"	"	"	"	BI 120	"	81
HT 1343	"	PL 1402	A 192	P 64	BI 51	"	65
	"	"	"	"	BI 53	"	66
	"	"	"	"	BI 54	"	67
	"	"	"	"	BI 60	"	69
	"	PL 1404	A 206	R 409	BI 107	"	80
	"	PL 1409	A 151	R 375	BG 123	"	60
	AR 1324	PL 1000	A 222	R 196	BI 69	"	70
Caturra x HT 832-1			76-9 N° 156				99
Caturra	PL 1464					F2	19
x	PL 1466					"	20
C-387 (c.v.5)	PL 1471					"	22
Témoins : C. arabica var. Caturra							
	"	ET 12-4					
	"	ET 12-5					

- Deux souches de *C. arabica* (Et 12-4 et Et 12-5) de la prospection ORSTOM effectuée en Ethiopie en 1966 (CHARRIER 1978 a) et identifiées comme peu sensibles par BIEYSSE (1985) et par LEGUIZAMON (1983) ont été utilisées comme "témoin résistant".

Pour chaque descendance, nous avons étudié 8 plants.

## 2.2. Le matériel fongique.

Nous avons utilisé l'isolat 1427 de la race II d'*H. vastatrix*. Cet isolat a été introduit à l'IRCC, et provient de la collection des races d'*H. vastatrix* du CIFC au Portugal.

## **3. Méthodologie.**

Les tests d'évaluation consistent, globalement, en des infections expérimentales. Elles sont effectuées par dépôt d'une suspension calibrée d'urédospores d'*H. vastatrix*, sur des feuilles de caféier détachées et maintenues en survie en chambre humide. Cette technique, appliquée en routine par le laboratoire de Phytopathologie de l'IRCC, a été adaptée au cas du complexe caféier-rouille par LEGUIZAMON (1983) et a subi quelques modifications apportées par BIEYSSE (1985) et par GIL (1988). La description en détail de la méthodologie peut être consultée dans les travaux de ces auteurs. Dans les paragraphes suivants, nous présentons un résumé des aspects les plus importants de la méthodologie et les adaptations effectuées dans notre cas particulier.

### 3.1. Sélection des feuilles pour l'inoculation.

Les feuilles terminales "souples et douces au toucher" sont sélectionnées. Ces feuilles ont été les plus sensibles dans les tests effectués au laboratoire de l'IRCC (GIL 1988 ; BIEYSSE 1985 ; LEGUIZAMON 1983). L'utilisation de ce type de feuilles permet d'uniformiser l'état physiologique du matériel.

### 3.2. Technique d'inoculation.

Nous préparons une suspension d'urédospores à une concentration de 10 mg pour 10 ml d'eau distillée. Cette concentration assure une densité approximative de 600 urédospores par goutte de 10 microlitres. Le jour de l'inoculation, les feuilles sont placées sur une éponge imbibée d'eau distillée dans une boîte plastique dont le couvercle est transparent. L'ensemble constitue la chambre humide. L'inoculation se fait sur la face inférieure des feuilles par un dépôt de 20 gouttes de 10 microlitres. Après l'inoculation, la chambre humide est placée à l'obscurité et à 24°C pendant 48 heures. Ensuite, elle est mise dans une cellule climatique à 25°C avec une photopériode de 12 heures.

### 3.3. L'échelle d'évaluation.

Nous avons utilisé l'échelle d'évaluation développée par LEGUIZAMON (1983). Dans la Figure 3-1 nous illustrons l'utilisation de cette échelle appelée échelle BH. Celle-ci permet de séparer les différents stades d'évolution des taches en sept catégories (B, C, D, E, F, G et H). A chaque observation, le nombre de taches de chaque catégorie est noté feuille par feuille.

### 3.4. Adaptations de la méthodologie.

#### 3.4.1. Conduite des expérimentations.

Dans les travaux précédents effectués à l'IRCC, 8 feuilles par plant et par race ont été inoculées. Des observations journalières de la maladie ont été réalisées. Dans cette étude, nous avons utilisé 6 feuilles par plant avec une observation tous les deux jours.

Ces modifications sont le résultat de l'analyse que nous avons faite des données d'une expérience précédente faite par GIL (1988). Cette analyse, présentée dans l'annexe 5, a montré que les différences entre génotypes ne changent pas, si nous

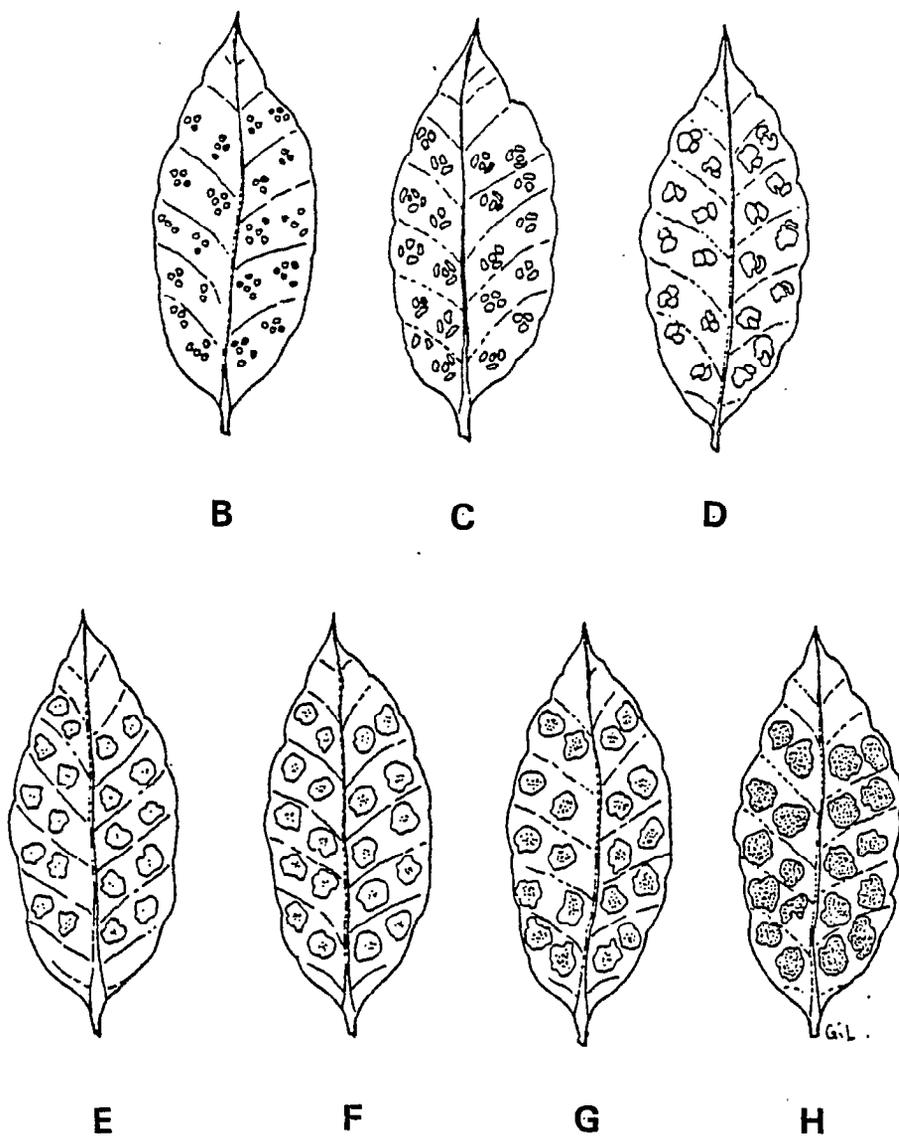


Figure 3-1. Différents stades de lésions pour évaluer l'évolution d'*H. vastatrix* à l'aide de l'échelle "BH" :

- \* Augmentation de la taille des taches; décoloration croissante du limbe :
  - B = apparition des petites taches décolorées.
  - C = augmentation de la surface des petites taches et décoloration plus prononcée.
  - D = tendance des petites taches à devenir coalescentes et intensification de la décoloration.
  
- \* Augmentation de la sporulation :
  - E = apparition des premières spores.
  - F = sporulation inférieure à 25% de la surface de la tache.
  - G = sporulation comprise entre 25% et 50% de la surface de la tache.
  - H = sporulation supérieure à 50% de la surface de la tache. (Adapté de LEGUIZAMON 1983; GIL 1988)

réduisons, d'une part, le nombre de feuilles inoculées de 8 à 6, et d'autre part, la fréquence des observations de moitié (une observation tous les deux jours).

Sur chaque individu, 22 observations ont été réalisées au total sur la période s'étendant du jour 10 après l'inoculation au jour 52.

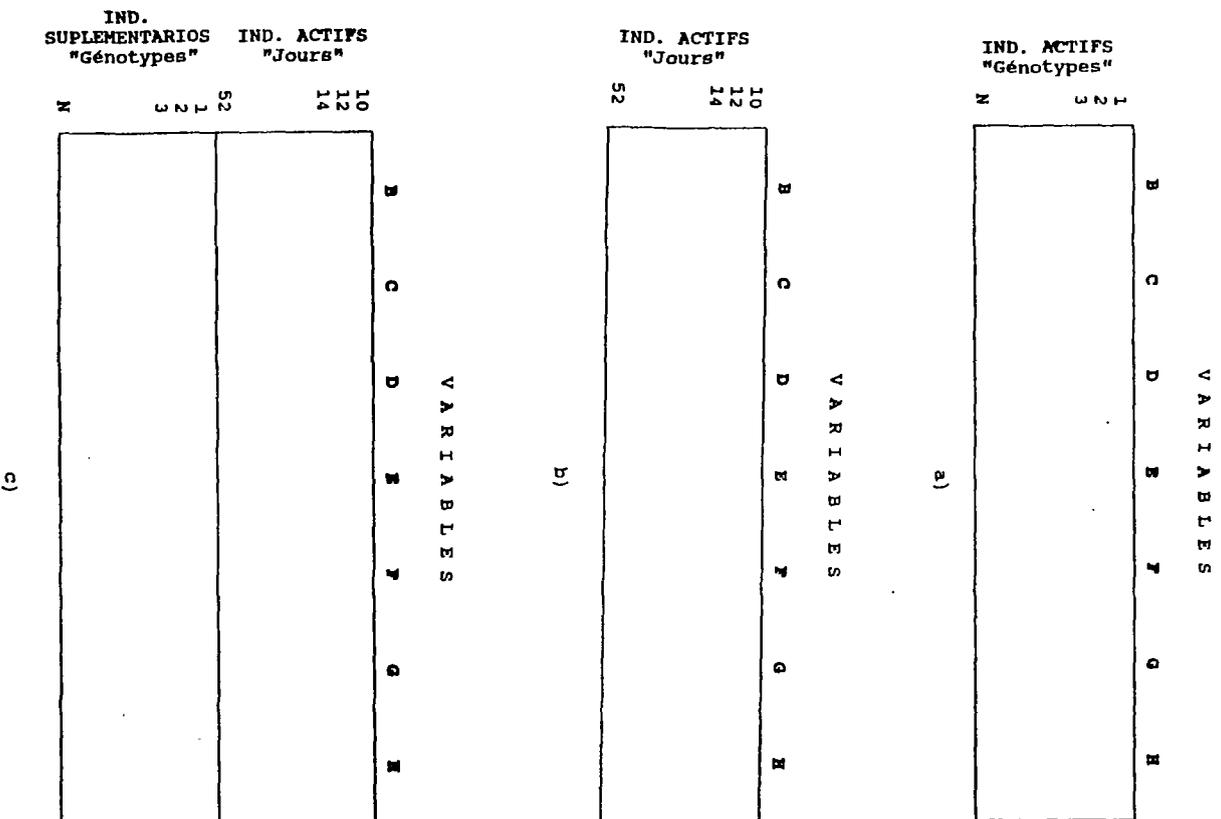
A chaque expérimentation, nous avons inclus les plantes qui possèdent des feuilles aptes à être inoculées, mais les plants, du fait de leur jeunesse (6-10 mois d'âge), présentent un nombre restreint de ce type de feuilles pour chaque inoculation. En conséquence, les trois paires de feuilles évaluées par plante ont été inoculées dans des expériences différentes. Pour avoir un terme commun de référence, nous avons inclus à chaque expérimentation des feuilles des témoins sensibles (Caturra) et peu sensibles (Et 12-4 ou Et 12-5).

### 3.5. Methodologie pour l'analyse des données.

La variation de la résistance à la rouille a été évaluée à l'aide de l'analyse factorielle des correspondances (AFC). Pour le traitement, les données sont présentées sous la forme de tableaux composés de n lignes et p variables. Dans notre cas, les 7 catégories de l'échelle d'évaluation de la maladie sont traitées toujours comme des variables. Les lignes représentent les individus qui peuvent être de nature différente. Dans la figure 3-2, nous montrons quelques modalités des tableaux utilisés.

Dans le tableau "a" de la figure 3-2, les "génotypes" sont considérés comme des individus actifs. La valeur pour chaque génotype est obtenue en effectuant la somme, ou la moyenne, des observations faites sur les feuilles d'une même plante. Pour une expérimentation donnée, chaque case du tableau est remplie par la quantité de taches qui appartiennent à une classe et à un individu particulier.

Dans le tableau "b" de la figure 3-2, les "jours d'observation" sont considérés comme individus actifs. Pour une expérimentation particulière, chaque case du tableau contient la quantité totale de taches de l'ensemble des génotypes pour la variable et pour chaque jour.



**Figure 3-2.** Tableaux utilisés pour l'évaluation de la résistance incomplète à la rouille, à l'aide de l'analyse factorielle des correspondances (AFC).

Un autre tableau est exploité ("c", fig. 3-2), dans lequel les "jours" sont traités comme individus actifs et les "génotypes" comme individus supplémentaires. Au moyen de cette structure, nous traçons l'évolution de la maladie d'un "génotype moyen", formé par la somme des observations journalières de tous les génotypes. Ce "génotype moyen" est employé comme un terme de référence pour évaluer le comportement des génotypes individuels, lesquels sont projetés sur le plan factoriel sous la forme d'individus supplémentaires. Une structure similaire a été utilisée par SAVARY et al. (1988) pour étudier les infections produites par *Puccinia arachidis* sur *Arachis hypogaea* L.

Le classement des individus a été réalisé au moyen de la technique de la classification ascendante hiérarchique et l'appartenance aux groupes formés a été testée par l'analyse factorielle discriminante.

### 3.6. Autres paramètres utilisés pour mesurer l'évolution de la maladie.

Les classements des génotypes que nous avons établis avec les analyses des données ont été confrontés à d'autres paramètres qui sont traditionnellement utilisés dans les études de résistance incomplète à la rouille orangée du caféier. Ces paramètres sont : l'index d'infection (II), le pourcentage de taches fructifères (T.F.), l'index de sporulation (IS), l'index d'intensité de la maladie (IIM) et le type de réaction (TR). Les quatre premiers sont les paramètres utilisés d'habitude par l'IRCC dans les études précédentes sur le complexe caféier-rouille (GIL 1988 ; BIEYSSE 1985 ; LEGUIZAMON 1983). Ces paramètres peuvent être calculés pour toute la période d'observation ou pour un seul jour, à partir de l'information résultant de l'application de l'échelle BH. Le type de réaction est mesuré avec une échelle de 10 points développée par ESKES (1983). Dans l'annexe 6, le calcul de ces paramètres est rappelé.

## 4. Résultats.

### 4.1. Développement de la maladie.

#### 4.1.1. Explication du processus infectieux.

Pour expliquer le processus infectieux d'*H. vastatrix* provoqué dans des conditions de laboratoire et son interprétation au moyen de la technique de l'AFC, nous avons choisi comme modèle l'expérimentation N° 4. Cette expérimentation a été sélectionnée parce que la tendance observée est commune à un groupe important d'expérimentations. Les différences entre les expérimentations seront traitées en détail ultérieurement. Cependant, les principes généraux utilisés ici pour l'interprétation de l'évolution de la maladie, sont valables pour toutes les expérimentations.

Les données les plus remarquables obtenues avec l'AFC pour chaque expérimentation sont présentées dans l'annexe 7. Dans le cas de l'expérimentation 4, les 2 premiers facteurs propres ont une inertie de 77.4 % et 13.3 %, respectivement ; ces deux facteurs expliquent 90,7 % de la variation existante. Au niveau du facteur propre 1, la variable B participe principalement, et pour le facteur 2 les variables H et F interviennent spécialement.

Le plan factoriel 1-2 correspondant à l'AFC de l'expérimentation 4 est représentée sur la figure 3-3. Dans cette figure, les "jours d'observation" sont reliés par une courbe (I) qui trace l'évolution de la maladie. Cette ligne représente le comportement du "génotype moyen". Les variables sont reliées par une autre courbe (II) qui suit une trajectoire équivalente à celle de la courbe I. La coïncidence entre ces 2 courbes montre que les variables de l'échelle BH traduisent d'une manière fidèle l'évolution de la maladie au cours du temps.

L'axe 1 oppose les variables B et D. Cet axe est lié, spécialement aux étapes de la maladie en rapport avec la croissance des taches. Par conséquent, nous pouvons dénommer cet axe comme représentant la "taille des lésions". Sur l'axe 2 sont distribuées

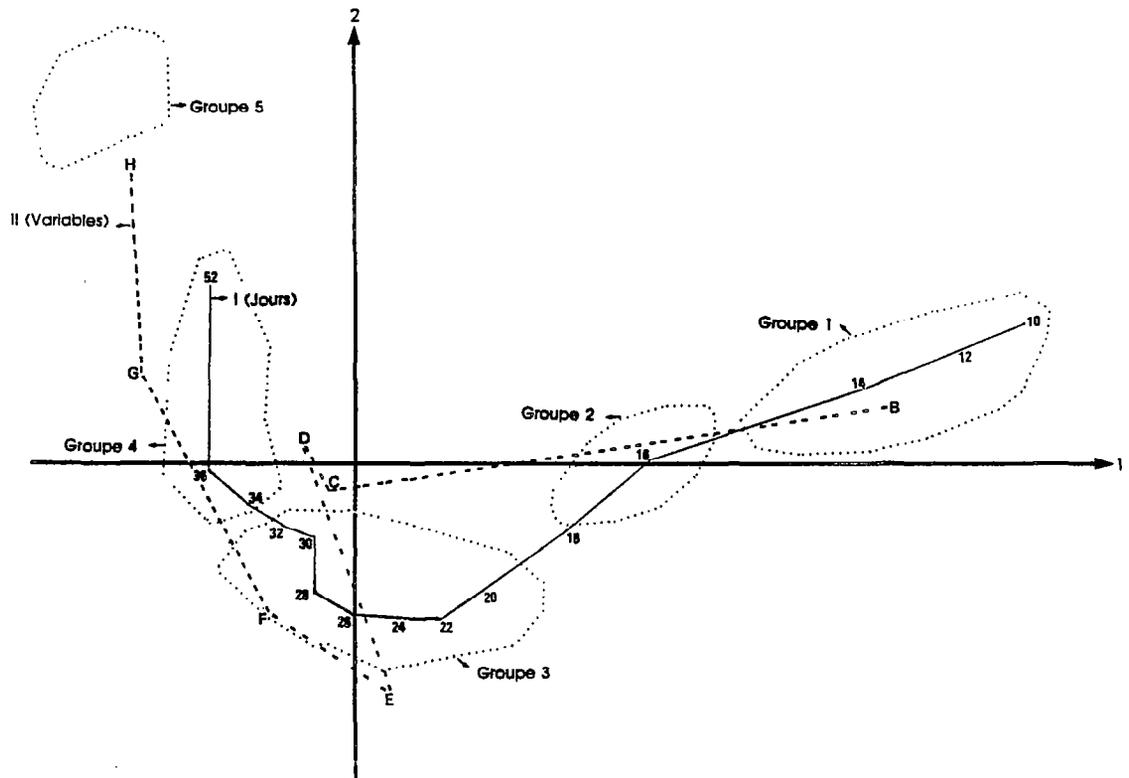


Figure 3-3. Evolution de la maladie au cours du temps et localisation dans le plan 1-2 des groupes de résistance après l'inoculation des génotypes avec la race II d'*H. vastatrix*. (expérimentation n°4)

les variables F, G et H qui décrivent l'augmentation de l'intensité de la sporulation. Il peut être dénommé "l'axe de la quantité de sporulation".

Sur le plan factoriel, chaque variable est située à proximité du jour pour lequel sa fréquence moyenne a été la plus importante. Dans l'expérience 4, les fréquences les plus élevées pour les variables B et H, par exemple, ont été observées aux alentours des jours 14 et 52, respectivement ; par conséquent, ces variables sont placées à proximité de ces jours. D'autre part, les génotypes sont positionnés sur le plan factoriel à une distance plus ou moins proche d'une ou plusieurs variables, qui sont considérées comme les plus influentes pour son profil. Dans l'expérience 4, les génotypes les plus "résistants" apparaissent placés à côté des variables B et C. Au contraire, les génotypes les plus "sensibles" sont situés à proximité de la variable H.

#### 4.1.2. Classement des génotypes.

Au moyen de la classification ascendante hiérarchique, nous avons séparé les génotypes grâce à l'exploitation des profils. La position de ces groupes sur le plan factoriel est montrée dans la figure 3-3, et dans le tableau 3-2 nous indiquons la composition de ces groupes.

Le témoin sensible Caturra a été classé dans le groupe 5, et les témoins "peu sensibles" Et 12-4 et Et 12-5 ont été classés dans le groupe 3.

Parmi les descendants de Caturra x H. de T., les plus sensibles appartiennent à la descendance 99, laquelle est dérivée de l'origine H. de T. 832. Trois plantes de cette descendance ont été classées dans le groupe 5, et la quatrième dans le groupe 4. Parmi les dérivés de l'origine H. de T. 1343, les plus sensibles appartiennent à la descendance 70, dans laquelle les 4 plantes inoculées ont été classées dans le groupe 4. Toutes les plantes des descendances 77, 75, 69, 67, 66 et 65 ont été incluses dans le groupe 3. Les autres descendances dérivées de l'origine H. de T. 1343 ont donné des individus résistants, classés dans les groupes 1 et 2 ou bien dans les groupes 2 et 3.

Ce processus d'analyse a été appliqué à chaque expérimentation.

**TABLEAU 3-2** : Classement des géotypes de l'expérimentation 4 dans les groupes déterminés par l'AFC, d'après leur profil pour les variables de l'échelle BH.

GENEALOGIE		GROUPES				
		1	2	3	4	5
CROISEMENT	DESCENDANCE	pl. N°	pl. N°	pl. N°	pl. N°	pl. N°
Cat x HT 832-1	99				10	4;6;9
Cat x HT 1343	70				3;4;9;11	
" x " "	63				1	
" x " "	77			2;9		
" x " "	75			2;5		
" x " "	69			9;11		
" x " "	67			5;7		
" x " "	66			1		
" x " "	65			2		
" x " "	73		12	7		
" x " "	71		6	7		
" x " "	81	6	7;8;10;11			
" x " "	60	5	6			
" x " "	80	14				
Caturra						x
Et 12-4				x		
ET 12-5				x		

#### 4.2. Des effets de l'environnement : les différences entre expérimentations.

La comparaison graphique des plans factoriels et l'analyse de la composition des facteurs propres de chaque expérimentation ont montré l'existence au niveau des résultats, de 2 tendances différentes. Une de ces 2 tendances a été observée au cours des 8 premières expérimentations réalisées entre février et juin (période 1) et l'autre au cours des 4 dernières effectuées entre août et septembre (période 2).

L'expérience 4 présentée auparavant est représentative du comportement au cours de la période 1. Pendant la période 2, le changement le plus important est une inversion dans les rôles des axes formés. Dans les essais de cette dernière période, le facteur propre 1 est constitué principalement par les variables liées à la sporulation, tandis que le facteur propre 2 est formé par les variables se rapportant à la croissance des lésions. Cette inversion dans la conformation des facteurs propres se traduit graphiquement par une rotation des axes ; cependant, les différences observées ne changent pas le concept d'orthogonalité des phénomènes constitutifs du processus infectieux.

Pour mieux préciser ces différences nous avons choisi les génotypes Caturra et Et 12-5 communs dans 10 des 12 expérimentations et réalisé un AFC. Après avoir transformé les coordonnées en variables numériques, nous avons fait une analyse de variance, dont les résultats sont rapportés dans le tableau 3-3. Les résultats montrent l'existence d'effets significatifs au niveau des génotypes, des expérimentations et de l'interaction entre ces deux facteurs, tant pour la variable factorielle F1 (variables expliquées par le facteur propre 1) que pour la variable factorielle F2 (variables liées au facteur propre 2). En utilisant un test de comparaison multiple pour mesurer les différences entre les moyennes (test de Newman et Keuls), nous avons séparé les expérimentations en deux groupes. Le premier groupe a été constitué par les expérimentations 3, 4, 5, 6, 7 et 8 (période 1) et le deuxième par les expérimentations 9, 10, 11 et 12 (période 2). Ces résultats confirment les observations faites précédemment au moyen d'autres méthodes.

**TABLEAU 3-3** : Analyse de variance des coordonnées factorielles F1 (facteur 1) et F2 (facteur 2) obtenues par l'AFC, des génotypes Caturra et ET 12-5 étudiés lors de différentes expérimentations.

SOURCE DE VARIATION	DL	F1		F2	
		CM	F	CM	F
Totale	39				
Descendances	1	13,43235	657,35**	1,51275	54,06**
Expérimentations	9	0,27109	13,27**	0,74267	26,54**
Desc. x Exp.	9	0,56808	27,80**	0,38366	13,71**
Résiduelle	20	0,02043		0,02798	

\*\* significatif pur P = 99 %

En conséquence, les résultats obtenus par l'AFC doivent être analysés en séparant ceux provenant de la période 1 et ceux issus de la période 2.

D'autre part, pour préciser l'effet du milieu sur les variables utilisées, nous avons employé les données de la variété Caturra, le seul génotype présent dans toutes les expérimentations. Après avoir fait une AFC, puis transformé les coordonnées factorielles en variables, nous avons représenté graphiquement leur déroulement au cours du temps (voir fig. 3-4). Cette figure montre que dans la période 2 l'asymptote supérieure est atteinte plus tôt, vers le jour 36. Ce fait indique que les conditions du milieu ont affecté principalement le facteur propre 2, c'est-à-dire les variables liées au processus de la sporulation. Cette figure montre aussi que les variations de l'environnement sont moins importantes pour le facteur propre 1, c'est-à-dire pour l'expression de la taille des taches.

#### 4.3. Diminution de la quantité d'observations.

Comme il a été cité dans le paragraphe 3.4.1 de ce chapitre, nous avons utilisé dans ce travail une fréquence d'observations de 2 jours, ce qui est déjà un gain important. Cependant, les analyses réalisées à chaque expérimentation nous ont montré la possibilité de réduire, encore plus, le nombre d'observations.

Nous avons vu que dans les AFC les données concernant chaque jour peuvent être traitées comme "individus", donc représentées par un profil et classées d'après lui. Dans les 12 expérimentations réalisées, les jours ont été classés en 4 groupes. Pour un groupe donné, la composition peut varier entre les expérimentations, mais elles conservent certains jours communs dans tous les cas. A chaque expérimentation, les groupes formés couvrent, à peu près, les étapes de la maladie de la manière suivante :

- groupe 1 : jours 10 à 16, représentatifs de la période de formation et du développement des lésions ;
- groupe 2 : jours 18 à 26, représentatifs du début de la sporulation ;

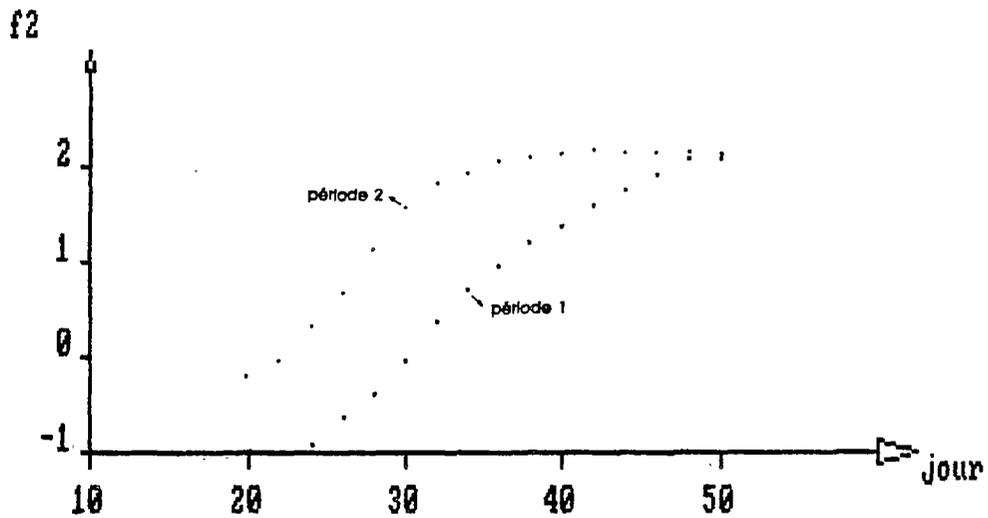
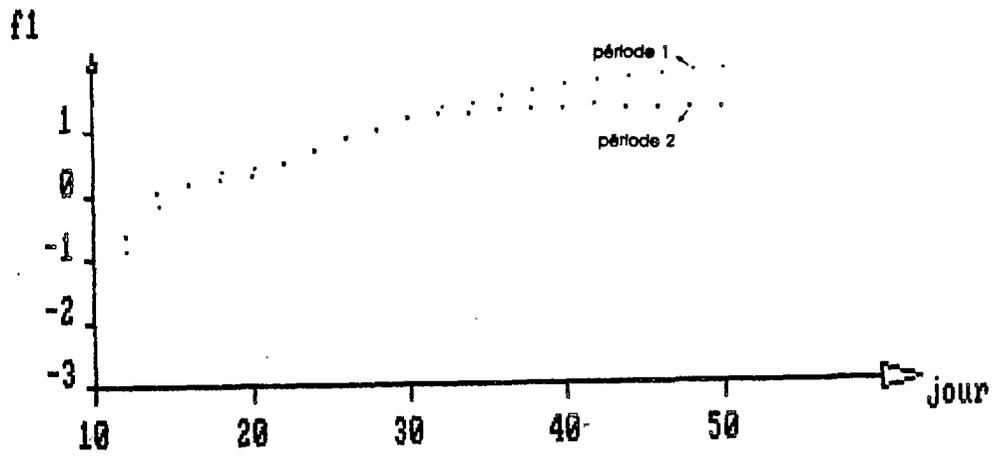


Figure 3-4. Evolution des variables factorielles F1 (taille des lésions) et F2 (quantité de sporulation), sur la variété Caturra inoculée avec la race II d'*H. vastatrix*, pendant les périodes 1 (février-juin) et 2 (août-septembre).

- groupe 3 : jours 28 à 40, indicatifs de l'augmentation de la sporulation;
- groupe 4 : jours 42 à 52, liés à la fin de l'infection.

Sur la base de ces 4 groupes, nous avons sélectionné des observations de jours différents avec lesquelles nous avons créé plusieurs séries tout au long de la période analysée. L'objectif a été de comparer les résultats de chaque série d'observations avec les résultats de la série témoin. Les séries créées ont été les suivantes :

- série 1 : quatre observations effectuées les jours 12, 24, 32 et 42, correspondant aux jours "centraux" des groupes observés ;
- série 2 : sept observations réalisées les jours 12, 20, 22, 24, 30, 34 et 42, afin de mieux couvrir les phases les plus importantes de l'évolution de la maladie ;
- série 3 : neuf observations, les jours 12-16-20-24-26-32-36-40 et 44, correspondant à une observation tous les quatre jours ;
- série 4 : utilisée comme témoin, formée par les observations faites tous les 2 jours.

Pour cette étude nous avons choisi les géotypes Caturra et Et 12-5, dont les données de chaque série de jours ont été traitées dans des AFC différentes. Après les AFC, nous avons transformé les coordonnées factorielles en variables numériques et nous avons obtenu leurs corrélations en utilisant les coordonnées de la série témoin comme variable explicative. Les résultats sont donnés dans le tableau 3-4. Ceux-ci montrent que les coordonnées factorielles de chaque série sont fortement corrélées avec celles de la série témoin, tant pour la variable factorielle F1 que pour la variable factorielle F2.

**TABLEAU 3-4** : Comparaison de différentes séries de jours d'observation grâce à l'étude de la corrélation ( $r$ ) et de la détermination ( $r^2$ ) entre les coordonnées factorielles F1 et F2 de chaque série

SERIE DE JOURS COMPAREE	F1		F2		
	1/	$r$	$r^2$	$r$	$r^2$
4 - 3		0,99**	98 %	0,98**	97 %
4 - 2		0,99**	98 %	0,96**	92 %
4 - 1		0,97**	95 %	0,95**	89 %

1/ 4 = Témoin : 22 observations, 1 tous les 2 jours

3 = 9 observations (jours 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40)

2 = 7 observations (jours 12, 20, 22, 24, 30, 34, 42)

1 = 4 observations (jours 12, 24, 32, 42)

\*\* = signification pour  $P = 99 \%$

#### 4.3.1. Utilisation des données d'une seule observation.

Nous avons fait la comparaison entre l'utilisation des données obtenues tous les 2 jours (traitement témoin) et lors d'une seule observation (le dernier jour). Deux jours, 36 et 52, ont été choisis comme "le dernier jour" à cause des différences entre les périodes 1 et 2 expliquées auparavant.

La comparaison a été faite de deux manières. D'abord, nous avons calculé les paramètres indice d'intensité de la maladie (IIM) et indice de sporulation (IS) de tous les génotypes, pour les jours 36 et 52, et pour le traitement témoin. Pour chaque paramètre, nous avons établi les corrélations entre les valeurs correspondantes aux jours 36 et 52, et entre ceux-ci et le traitement témoin. Les corrélations obtenues sont hautement significatives ( $P = 99\%$ ). Ces différentes comparaisons indiquent une relation étroite entre les paramètres utilisés.

D'autre part, avec les variables de l'échelle BH pour les mêmes jours, nous avons fait les AFC. Dans les cas d'utilisation d'un seul jour, les génotypes ont été classés en 3 groupes. Lorsque l'analyse se fait pour le traitement témoin, 5 groupes ont été formés. A cause de cette disparité, nous avons fait la comparaison des classements seulement entre les jours 36 et 52 (voir tableau 3-5). Pour quelques génotypes, les classements obtenus pour le jour 36 et le jour 52 sont identiques. C'est le cas de la plupart des plantes des groupes 1 (sensible) et 3 (résistant), et de quelques-unes du groupe intermédiaire. Cependant d'autres génotypes, spécialement du groupe intermédiaire, ont leur classement qui change. Par exemple, pendant la période 2 caractérisée par une sporulation rapide, 19 plantes classées le jour 36 dans le groupe 2 (intermédiaire) passent dans le groupe 1 (sensible) le jour 52. Pendant la période 1, caractérisée par un lent développement de la maladie, des changements dans les deux sens ont été observés. Le changement du groupe 2 (intermédiaire) vers le 3 (résistant) pourrait être expliqué par l'action tardive des facteurs de résistance.

Le résultat que nous voudrions retenir ici est que, dans la population testée, il y a des changements pendant la période observée qui ne suivent pas la même tendance. Une conclusion similaire peut être déduite des résultats obtenus par

**TABLEAU 3-5** : Comparaison entre les classements de plusieurs génotypes d'après leur réaction à *Hemileia vastatrix*, obtenus pour deux jours différents.

JOUR 36

Groupes *		1	2	3
		**		18
J O U R  5 2	1	6	19	0
		2	24	0
	2	0	11	2
		0	15	76
	3	0	0	47

\* : 1 = Sensible ; 2 = Intermédiaire ;  
3 = Résistant

\*\* : En haut = Période 1 (142 génotypes)  
En bas = Période 2 ( 85 génotypes)

LEGUIZAMON (1983). Cet auteur a analysé l'évolution de la rouille du caféier en utilisant une courbe logistique. Ses résultats ont montré que l'asymptote supérieure est indépendante et non-corrélée, ni avec l'asymptote inférieure, ni avec l'indice de vitesse de l'évolution de la maladie (point moyen sur la courbe).

#### 4.4. Caractérisation des groupes de résistance.

Pour bien définir les différences entre les génotypes, il est nécessaire d'abord de caractériser les groupes de résistance résultant des AFC. Nous avons fait cette caractérisation en fonction des variables de l'échelle BH et aussi des paramètres les plus utilisés.

Après les AFC, nous avons séparé les génotypes dans les différents groupes et nous avons vérifié l'appartenance à ces groupes au moyen de l'analyse factorielle discriminante (AFD).

Le pourcentage de plantes bien classées avec l'AFC était de 89% pour la période 1 et de 88 % pour la période 2. Nous avons identifié les individus mal classés au moyen de l'AFD, et avec les classifications corrigées, nous avons établi les profils de la Figure 3-5.

Pour expliquer la caractérisation des groupes, nous avons séparé les variables de l'échelle BH en deux parties : la première se rapporte aux phases non sporulantes (variables B, C et D) et la seconde avec les phases sporulantes (variables F, G et H). Cette séparation résulte de l'orthogonalité des axes factoriels représentatifs de ces deux processus.

Pour la caractérisation, nous avons choisi comme critère "la variable prépondérante" à chacune des deux phases mentionnées. Dans le tableau 3-6 nous montrons les variables prépondérantes de chaque groupe ainsi que la moyenne et la variation des paramètres II, TF, IIM et IS. Sur la base des résultats de ce tableau et des distributions de fréquence de la figure 3-5, nous pouvons définir les groupes de la

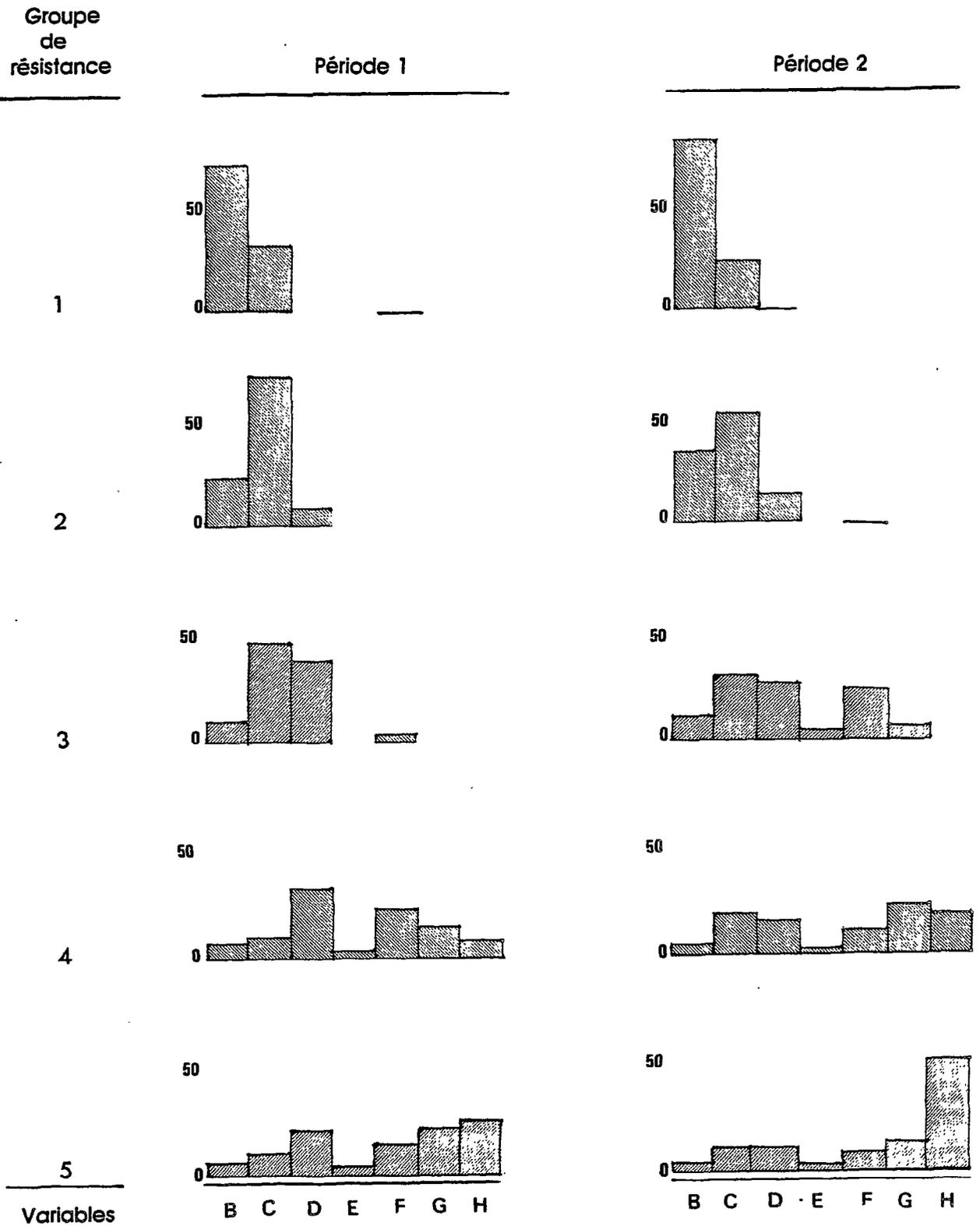


Figure 3-5. Profils caractéristiques des groupes de résistance à *H. vastatrix*, issus de la mesure de l'évolution de la maladie à l'aide de l'analyse factorielle des correspondances (AFC).

**TABLEAU 3-6** ; Caractérisation des différents groupes de classement des génotypes résistants à *H. vastatrix* au moyen de la "variable prépondérante" et des autres paramètres.

GROUPE	VARIABLE PREPONDERANTE		II		TF		IIM		IS	
	PHASE NON SPORULANTE	PHASE SPORULANTE	$\bar{x}$ **	c.v. %	$\bar{x}$ **	c.v. %	$\bar{x}$ **	c.v. %	$\bar{x}$ **	c.v.
1	B	-	37,2	50,2	0,2	264,5	7,1	48,3	0,1	264,5
	B	-	38,7	49,7	0,0	0,0	6,8	55,0	0,0	0,0
2	C	-	68,9	19,5	0,1	423,9	18,4	20,3	0,02	435,4
	C	-	58,6	23,9	1,4	221,4	15,8	30,8	0,79	241,5
3	C ou D	F	75,5	23,6	4,0	169,1	26,3	30,0	2,0	177,4
	C ou D	F	69,1	30,8	23,2	52,0	31,6	32,6	12,2	55,4
4	D	G	76,3	21,2	37,2	27,6	43,2	21,4	23,1	30,8
	D	G	82,7	11,9	51,1	16,6	54,1	12,5	38,2	15,3
5	D	H	70,8	30,0	45,7	33,2	47,8	30,7	34,5	30,7
	D	H	92,7	6,6	70,9	7,2	72,6	8,9	61,7	11,2

Ligne du haut : Période 1

Ligne du bas : Période 2

II = Indice d'infection ; TF = Taches fructifères ; IIM = Indice d'intensité de la maladie ; IS = Indice de sporulation

\*\* = Moyenne sur tout le cycle d'observation

manière suivante :

Groupe 5 : les variables prépondérantes dans les phases non-sporulantes et sporulantes, sont D et H. Dans les génotypes de ce groupe, la maladie évolue rapidement. Grâce à ce comportement, l'état final est obtenu précocement, donc la variable H accumule la fréquence relative la plus importante.

En général, ce groupe a les valeurs les plus élevées pour les paramètres II, TF, IIM et IS. Les individus de ce groupe présentent la quantité de taches la plus importante, la plupart de grande taille et avec une sporulation abondante. Nous considérons ce groupe comme "très sensible".

Groupe 4 : les fréquences relatives sont plus équilibrées, ce qui signifie que la maladie se déroule plus lentement que dans le groupe 5. En accord avec un développement plus ou moins lent, les variables prépondérantes peuvent être C ou D (phase non-sporulante) et F ou G (phase sporulante). Ce groupe représente les génotypes qui arrivent à l'état final tardivement. Les paramètres II, TF, IIM et IS ont des valeurs inférieures par rapport au groupe 5. Ce groupe peut être considéré comme "sensible".

Groupe 3 : les variables prépondérantes sont C (phase non-sporulante) et F (phase sporulante). Très peu de lésions arrivent au stade G et aucune au stade H. Le paramètre II a des valeurs élevées, mais les autres paramètres ont des valeurs relativement faibles. Nous considérons ce groupe comme "intermédiaire".

Groupe 2 : dans la phase non-sporulante la variable prépondérante est C. Il n'y a pas de variable prépondérante pour la phase sporulante, même si quelques génotypes sporulent faiblement. Le paramètre II a des valeurs intermédiaires (68,9 et 58,6) et le paramètre IIM a des valeurs faibles (18,4 et 15,8). Les autres paramètres ont des valeurs insignifiantes. Nous considérons ce groupe comme "résistant".

Groupe 1 : la variable prépondérante dans la phase non-sporulante est B. Il n'existe pas de variable prépondérante dans la phase sporulante. La valeur pour le paramètre II est relativement faible (37,2 et 38,7), la valeur de IIM est très basse (7,1 et 6,8) et les valeurs pour les autres paramètres sont nulles. Nous considérons ce groupe comme "très résistant".

Pour faire une comparaison avec le paramètre "TR" utilisé par ESKES (1983), nous avons évalué les génotypes d'une expérimentation avec l'échelle 0-9, qui mesure le type de réaction (TR). L'évaluation a été faite le jour 36 sur le matériel végétal de l'expérimentation 11. L'évaluation a consisté à soumettre les données du jour 36 à l'AFC, ensuite à confronter les individus classés vis-à-vis de leur valeurs pour le paramètre TR (voir tableau 3-7). Trois groupes seulement ont été formés par l'AFC. Les moyennes des groupes 1, 2 et 3, par rapport au paramètre TR, correspondent respectivement aux catégories résistant (R), moyennement résistant (MR) et sensible (S), dans le concept du type de réaction.

#### 4.5. Variation dans la population testée.

La plupart des plantes des descendance Caturra x H. de T. ayant été testées pendant la période 1, nous avons utilisé les données de cette période pour étudier la variation existante dans cette population. Par contre, les descendance Caturra x C-387 ayant été testées dans la deuxième période, nous avons dû utiliser ces données pour expliquer sa variation. Dans le tableau 3-8 nous présentons un résumé du classement de ces plantes dans les groupes formés.

##### 4.5.1. Variation dans la population Caturra x H. de T.

Nous présentons les résultats en groupant les descendance d'après leur niveau de variation interne.

**TABLEAU 3-7** : Correspondance entre le classement des génotypes de l'expérimentation 11 établi grâce à l'échelle BH et le type de réaction (échelle 0-9) mesuré le jour 36

GROUPE	TYPE DE REACTION		
	$\bar{x}$	c.v. %	AMPLITUDE
1	1,4	43,5	1,0 - 3,7
2	5,8	23,7	4,0 - 8,0
3	8,1	7,6	7,5 - 9,0

**TABLEAU 3-8 :** Classement dans différents groupes de résistance à *Hemileia vastatrix* race II, des plantes dérivées des croisements "Caturra x Hybride de Timor" et "Caturra x Origine C-387"

CROISEMENT	DESCENDANCE		PLANTES TESTEES	PLANTES CLASSEES DANS CHAQUE GROUPE FORME				
	TESTEE A MONTPELLIER	Nbre *		GROUPES				
	IDENTIFICATION			1	2	3	4	5
Caturra. x HT 1343 (c.v.2)	61	8			3	1	3	1
	62	8			4	3	1	
	63	8	1		2	3	1	
	81	8	3		3	2		
	71	8	1		5	1		
	75	6	1		3	2		
	73	8			6	2		
	77	6			2	4		
	65	8			2	6		
	66	8			5	3		
	67	5			2	3		
	69	8			7	1		
	80	8	1		1	4	2	
	60	8			8			
70	8					2	2	4
Caturra x HT 832/1	99	8				1	6	1
Caturra x C-387 (c.v.5)	19 20 22	8 6 7	1 2		1	1	6 2 5	1
Témoins : C. arabica var. CATURRA								x
" ET 12-4								x
" ET 12-5								x

\* Plantes appartenant à la période 1 : Population dérivée de l'H. de T.  
Plantes appartenant à la période 2 : Population dérivée de C-387

### .1. Descendances avec des variations internes importantes.

Dans la figure 3-6, nous montrons la position sur le plan factoriel des plantes des descendances 61, 63 et 80, lesquelles ont montré le niveau de dispersion le plus important. Ces plantes sont distribuées dans 4 des 5 groupes formés, depuis la zone caractéristique des phénotypes avec de nombreuses lésions, la plupart de grande taille et sporulation abondante (groupes 4 et 5), jusqu'à la zone propre des phénotypes avec peu de lésions, de petite taille et sans sporulation (groupes 1 et 2).

La grande dispersion de ces descendances peut être interprétée comme des cas de ségrégation.

### .2. Descendances avec une variation interne faible.

Dans la figure 3-7, nous montrons la localisation sur le plan factoriel des descendances 60, 65, 70 et 99, lesquelles ont un comportement différent, mais une variation faible à l'intérieur de chacune des descendances.

La descendance 99 est uniformément sensible, avec ses plantes classées dans les groupes 4 et 5. La position de ces plantes sur le plan factoriel est indicative d'une tendance à la production de nombreuses taches de grande taille, avec sporulation importante. La descendance 70 est sensible aussi, mais elle possède quelques variations à l'égard du facteur 2 qui concerne la quantité de sporulation.

La descendance 60 est uniformément résistante, avec ses plantes classées dans le groupe 2. La tendance de cette descendance est la production de plantes avec de taches de taille moyenne et sans sporulation.

La descendance 65 présente un comportement moyen, avec une majorité de plantes classées dans le groupe 3. Ses caractéristiques principales sont la présence de taches de taille moyenne, la plupart desquelles sporulent mais avec une intensité faible.

Les descendances 67, 69 et 77, non représentées dans la figure 3-7, sont semblables par leur comportement aux descendances incluses dans cette figure. Les descendances 67 et 77, de comportement moyen, ont une allure semblable à celle de

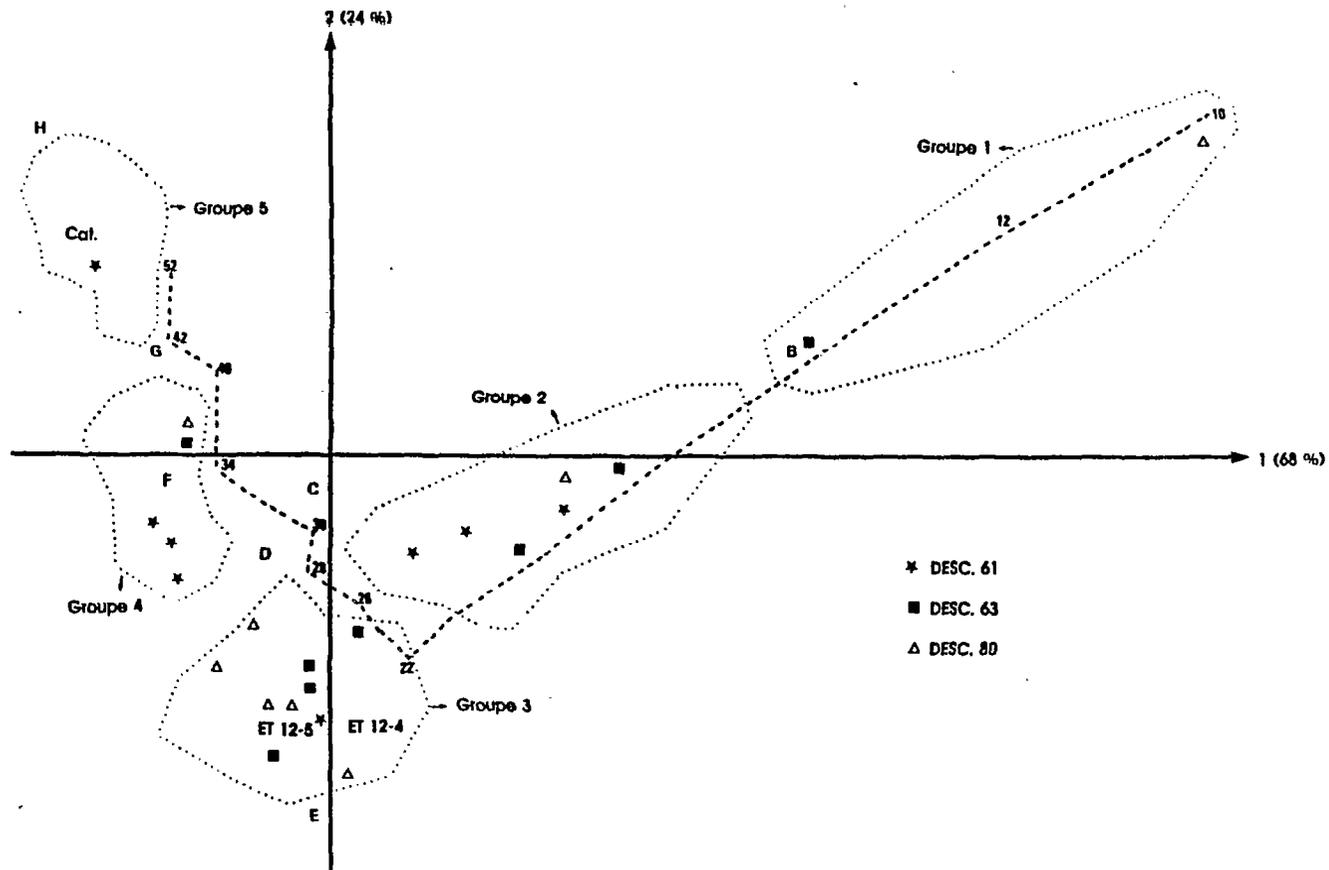


Figure 3-6. Représentation dans le plan 1-2 des descendance Caturra x Hybride de Timor les plus variables pour la résistance à la race II d'*H. vastatrix* et des témoins Caturra, Et 12-4 et Et 12-5.

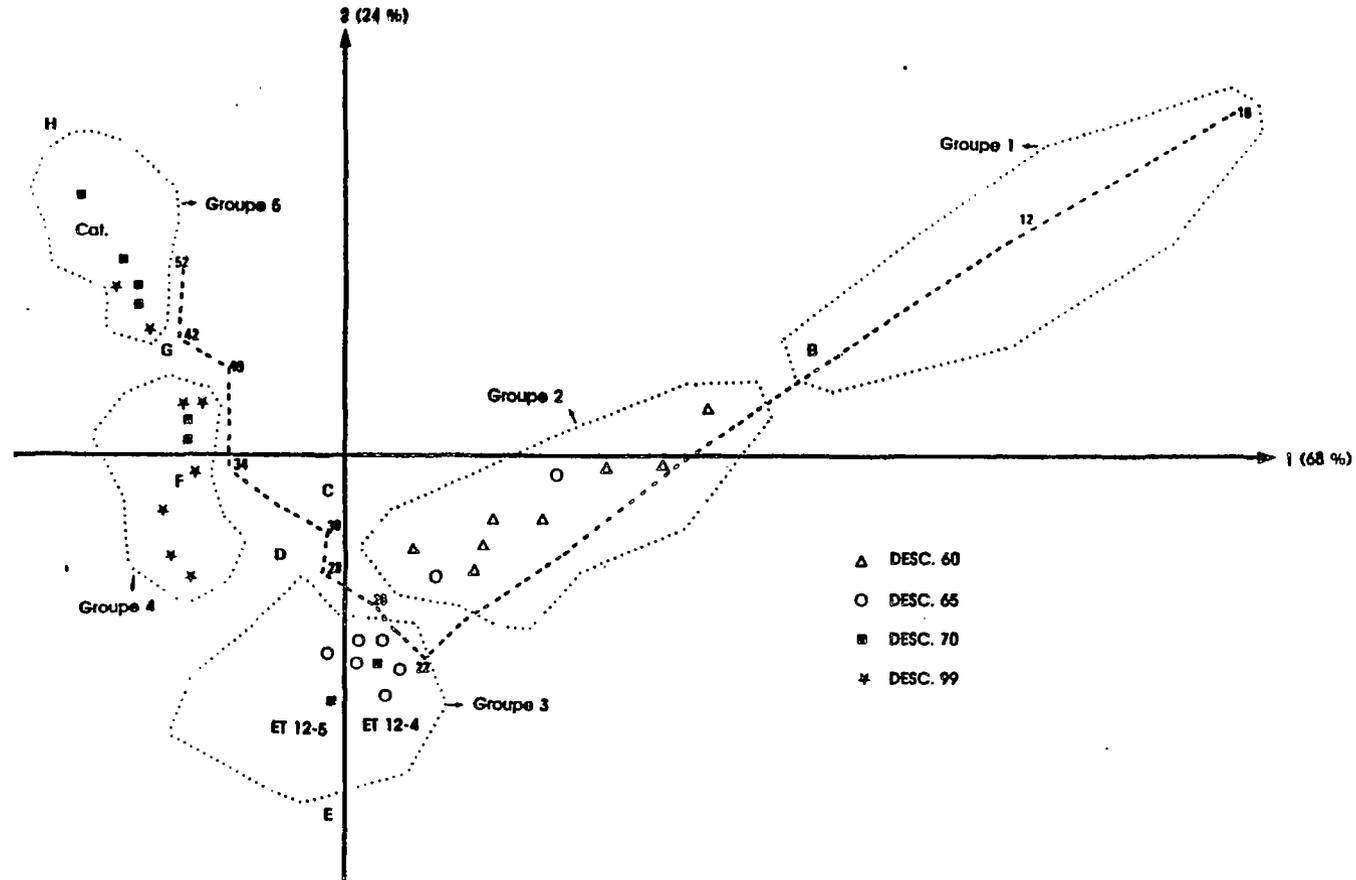


Figure 3-7. Représentation dans le plan 1-2 des descendance Caturra x Hybride de Timor les moins variables pour la résistance à la race II d'*H. vastatrix* et des témoins Caturra, Et 12-4 et Et 12-5.

la descendance 65. La descendance 69, uniformément résistante, a une dispersion comparable à celle de la descendance 60.

### .3. Descendances avec une variation intérieure moyenne.

Dans la figure 3-8, nous présentons le positionnement sur le plan factoriel des descendances 62 et 81, caractérisées par une variation interne moyenne. La descendance 62 partage ses individus entre les groupes 2, 3 et 4, et la descendance 81, entre les groupes 2 et 3. Le comportement de ces descendances face à la maladie est intermédiaire.

Les descendances 66, 71, 73 et 75, non représentées dans la figure 3-8, ont une dispersion semblable à celle des descendances 62 et 81.

#### 4.5.2. Variation dans la population Caturra x C-387.

Dans la figure 3-9, nous montrons la localisation sur le plan factoriel des descendances issues du croisement Cat. x C-387.

La descendance n° 20 a montré le niveau de dispersion le plus important, ses plantes se répartissant dans les groupes 1, 2, 3 et 4. Dans cette descendance, il y a des individus avec de petites taches qui ne sporulent pas (plantes 20-1 et 20-7) ; d'autres présentent une sporulation faible (plante 20-18) et d'autres une forte sensibilité avec un niveau d'attaque élevé.

Le niveau de dispersion des descendances 19 et 22 est inférieur à celui de la descendance 20 ; les plantes sensibles (groupes 4 et 5) sont prédominantes. La descendance 19, une des plus sensibles du groupe évalué, possède un plant (N° 19-12) dont les taches ne sporulent pas ; ce pourrait être un individu hors-type issu de pollinisation croisée. Dans la descendance 22, il y a quelques variations par rapport à l'axe 2, ce qui produit des individus avec des taches de grande taille, mais avec différents niveaux de sporulation.



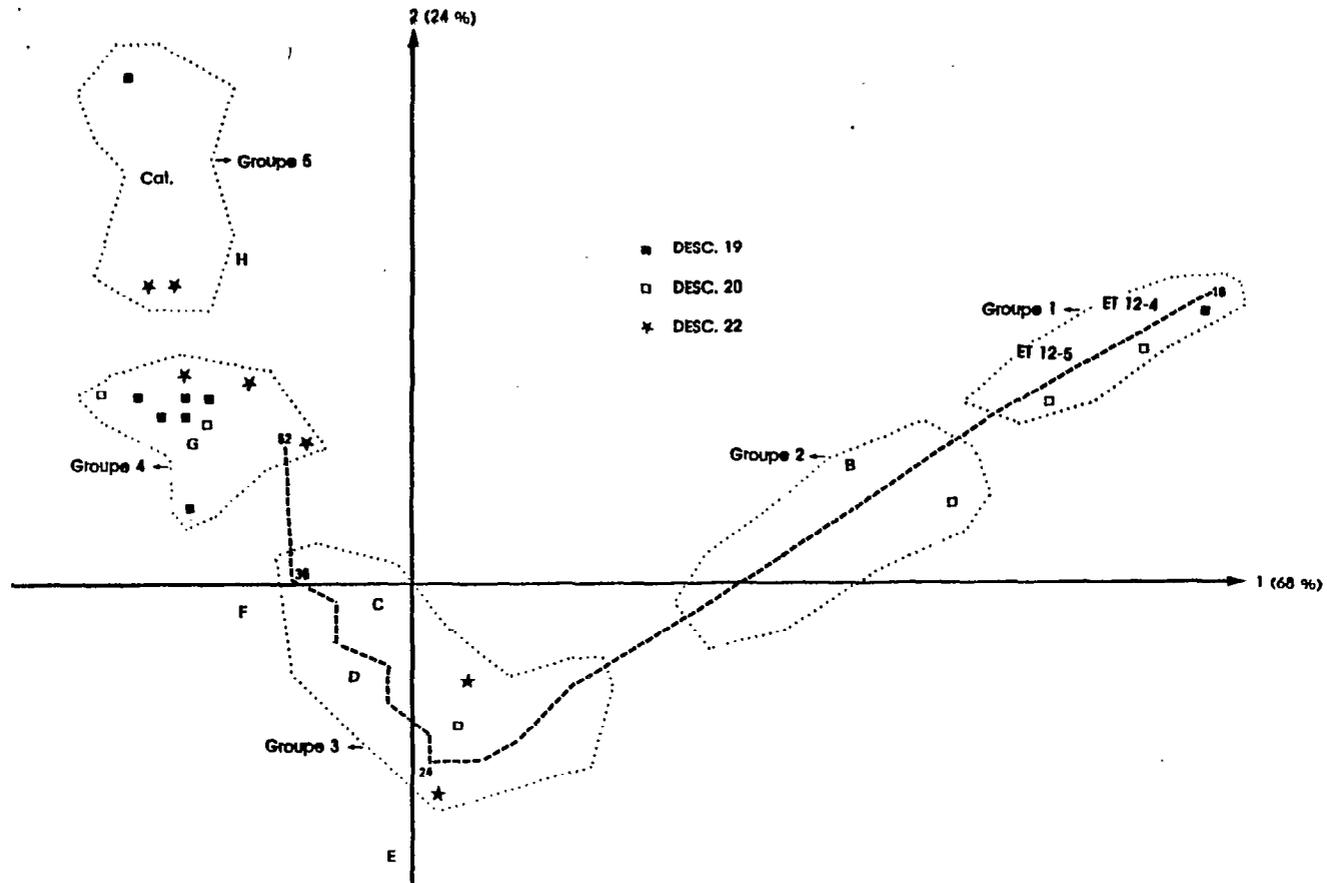


Figure 3-9. Représentation sur le plan 1-2 des descendance Caturra x C-387, inoculées avec la race II d'*H. vastarix*, et des témoins Caturra, Et 12-4 et Et 12-5.

## 5. Discussion.

### 5.1. L'interprétation du processus infectieux à l'aide des analyses multivariées.

Dans la représentation sur un plan factoriel d'une attaque de la rouille orangée du caféier par *H. vastatrix* sur des feuilles détachées, deux axes représentent respectivement la variation de la taille des lésions et la variation de la quantité de sporulation. Avec ce système d'analyse multivariée nous pouvons représenter environ 90% de la variation totale sur un même plan.

En accord avec le principe de l'orthogonalité des axes factoriels (BENZECRI 1973), la croissance des lésions et la quantité de spores produites seraient des processus développés indépendamment. Le comportement différent des facteurs propres 1 et 2 vis à vis du milieu dans les périodes 1 et 2 conforte l'hypothèse d'indépendance des processus que ces deux facteurs représentent.

En conséquence, nous suggérons d'évaluer les génotypes en utilisant des paramètres descriptifs de chacun des processus séparément. Sinon des situations ambiguës se produiront, spécialement au niveau des individus intermédiaires. Par exemple, l'emploi de l'index d'intensité de la maladie (IIM) peut nous conduire à des situations telles que : une plante avec 20 taches dans l'état D (non-sporulant) aura une valeur du IIM de  $(20 \times 3)/1,4 = 43$ . Une autre plante ayant 9 taches dans l'état H (le plus avancé) donne une valeur pour l'IIM de  $(9 \times 7)/1,4 = 45$ . Les deux valeurs pour cet index sont identiques, mais la situation par rapport à la maladie est très différente. A ce propos ROELFS (1988) attire l'attention sur l'utilisation des index qui rassemblent différentes étapes de la maladie, parce que, d'après lui, les différences peuvent être déformées.

L'orthogonalité des axes factoriels nous permet aussi d'établir comme hypothèse que la taille des lésions et l'augmentation de la sporulation sont des événements génétiquement indépendants. Dans ce cas, la sélection réalisée séparément pourrait être efficace pour chaque caractère. PARLEVLIE (1988) et ROELFS (1988)

mentionnent plusieurs exemples dans lesquels les composantes de la résistance incomplète à la rouille des céréales sont contrôlées par des gènes différents.

## 5.2. Différences dues à l'environnement.

Puisque les inoculations artificielles ont été réalisées dans des conditions contrôlées équivalentes dans tous les cas, nous pouvons supposer que les différences entre les expérimentations sont dues aux variations de l'environnement pendant la période de croissance du matériel végétal en serre. La séparation des expérimentations en deux groupes ou périodes est en accord avec l'ordre chronologique dans lequel les essais ont été réalisés. Nous avons effectué des inoculations de février à septembre ; pendant cette période, les variations climatiques sont importantes à Montpellier, principalement au niveau de la température, de l'intensité lumineuse et de la photopériode. La variation des conditions climatiques retarde le processus de sporulation, tandis que la croissance des taches est peu affectée.

Des différences entre expérimentations concernant la résistance à la rouille du caféier dues à des changements dans les conditions climatiques ont été enregistrées par LEGUIZAMON (1983) et par GIL (1988) à Montpellier, et par ESKEs (1983) au Brésil. Ces différences posent un problème relativement important : elles empêchent de réunir les données de plusieurs essais pour faire un analyse totale.

Avec la méthodologie utilisée dans ce travail, ce problème peut être résolu, mais seulement de manière partielle. En effet, la comparaison des génotypes par leurs coordonnées factorielles, est un méthode moins exigeante qu'une analyse de la variance. En conséquence, nous avons pu faire la comparaison de données provenant d'essais différents. Cependant, l'inversion des axes à cause des modifications climatiques interdit toute comparaison.

Deux suggestions peuvent être faites pour diminuer les effets du milieu. La première est de concentrer les essais en une seule période de l'année, par exemple entre Juin et Septembre. La deuxième est de sélectionner les paramètres de la sporulation les moins affectés par l'environnement. Les paramètres liés à la croissance des

lésions sont à rejeter, car l'absence de sporulation peut être confondue avec des cas de résistance complète.

### 5.3. Réduction de la fréquence des observations.

L'emploi de plusieurs observations faites à différentes dates donne des informations sur l'état final de la maladie et aussi sur son évolution. Cette méthode est considérée comme très représentative, mais elle exige plus de travail. Dans la pratique, le fait de réaliser plusieurs observations se traduit par une réduction de la taille de la population étudiée. Cette réduction n'est pas souhaitable, spécialement dans le cas des études avec de nombreuses descendances issues des programmes d'hybridation. La solution la plus appropriée serait de réduire la quantité des observations jusqu'au point où la perte d'information ne perturbe pas les résultats.

Les données que nous avons présentées montrent que le nombre de jours d'observations peut être réduit, même drastiquement, sans induire des modifications importantes dans le résultat final. En effet, une diminution de 81% des observations, c'est à dire, de 22 à 4 observations, provoque une perte maximum d'information de 11% pour les variables liées à la sporulation. Quant aux variables responsables de la taille des taches, le changement est nul. Une telle diminution permet l'étude d'un plus grand nombre de descendances.

Par rapport à l'utilisation des données d'une seule observation, PARLEVIET (1988) mentionne que plus l'observation est précoce, plus l'évaluation est difficile et incertaine. Par contre, plus l'observation est tardive, plus les différences entre génotypes sont déformées. Cet auteur recommande de faire les observations lorsque la plupart des génotypes de l'expérimentation ne sont pas complètement affectés.

Dans le matériel végétal que nous avons testé, le développement de la maladie n'est pas homogène : quelques génotypes n'arrivent pas à l'état le plus avancé de la maladie. D'autres y arrivent, mais plus ou moins tardivement. Ces différences de comportement ne peuvent être connues que si la maladie est évaluée à des dates

différentes. Ainsi, par rapport aux résultats obtenus avec une seule observation, deux groupes supplémentaires représentatifs de ces évolutions sont mis en évidence.

Il faut souligner que le bon emploi d'une évaluation statique ou dynamique dépend des objectifs. Si l'intérêt est seulement l'observation de l'état final, l'évaluation basée sur les données du dernier jour est la plus pratique du fait de sa simplicité. S'il est intéressant de connaître la forme d'évolution de la maladie pour arriver à cet état final, les observations effectuées à différentes dates sont nécessaires. Aujourd'hui la disponibilité de logiciels pour l'analyse de l'information et la réduction du nombre d'observations facilitent l'emploi du système d'évaluation dynamique.

#### 5.4. Le classement des génotypes et leur caractérisation.

Le classement des génotypes que nous avons établi s'appuie sur différents aspects :

D'une part, l'analyse factorielle discriminante indique que les génotypes sont classés en groupes qui sont reproductibles. Une partie majoritaire de la population, proche de 90%, peut être classée correctement. Ce classement général n'est dû ni au hasard, ni à l'échantillonnage. D'autre part, les groupes établis ont une signification biologique puisque ils sont en accord avec les paramètres employés couramment pour mesurer l'évolution de la maladie.

Finalement, les groupes obtenus coïncident avec le classement proposé par d'autres chercheurs qui ont employé des critères différents. Par exemple, GIL (1988) a séparé quelques génotypes de *C. arabica* d'après l'intensité de colonisation des tissus foliaires par le mycelium d'*H. vastatrix* et d'après d'autres paramètres indicatifs de la résistance incomplète. Les caractéristiques des groupes séparés par cet auteur coïncident, en termes généraux, avec nos groupes, mais leur nombre est différent (4 et 5, respectivement). Aussi, les 5 groupes résultant de notre travail peuvent être assimilés aux catégories suivantes : "très résistant", "résistant", "moyennement résistant", "moyennement sensible" et "sensible". Ces catégories peuvent être déduites de l'application de l'échelle utilisée par ESKES (1983) pour mesurer le type de réaction.

### 5.5. Variabilité dans la résistance incomplète.

Les génotypes testés dans ce travail manifestent une importante variation dans leur réponse à l'inoculation avec la race II d' *H. vastatrix*. Dans la population testée, des plantes ou des descendances ont des taches qui ne sporulent pas ; d'autres ont une sporulation faible ou forte. Elle est parfois plus importante que celle des taches produites par la variété Caturra, le témoin sensible.

Les géniteurs des descendances testées à Montpellier sont sensibles à la race II au champ, en Colombie. Récemment nous avons commencé en Colombie l'évaluation du niveau de résistance au champ de l'ensemble des géniteurs. Les données disponibles à ce jour montrent qu'une grande variation existe dans le niveau d'attaque. En plus, l'évaluation montre que l'intensité de l'attaque chez les géniteurs est beaucoup moins importante par rapport à la variété Caturra (CASTILLO, communication personnelle).

Les niveaux de résistance trouvés chez les géniteurs en Colombie et dans leurs descendances testées à Montpellier, peuvent être le résultat de situations différentes que nous allons tenter d'expliquer maintenant.

- \* a) Les géniteurs appartiennent au groupe physiologique E (sensible à la race II et sans gènes majeurs de résistance) et leurs descendances aussi. Si une telle hypothèse est vraie, le faible niveau d'attaque et la variation observée dans ce matériel résulteraient de l'action de gènes différents de ceux de la série SH6-SH9 décrits par BETTENCOURT et LOPES (1982) et par BETTENCOURT et al. (1980) sur de matériel semblable. Il s'agirait de gènes de résistance incomplète, dont la combinaison serait capable de produire des réactions de résistance complète.

L'existence de la résistance incomplète dans la population dérivée de croisements avec l'H. de T. a été démontrée par ESKES et al. (1989) et par VARZEA et al. (1985). La présence d'individus avec une résistance complète, issus de géniteurs avec différents niveaux de sensibilité au champ, a été

enregistrée aussi dans ce même type de population par ABREU (1984) et par ESKEs et al. (1989). Les résultats trouvés par ces auteurs sont aussi en accord avec une résistance du type incomplète dans la population dérivée de Caturra x H. de T. développée en Colombie.

Du fait du caractère exploratoire de ce travail, les échantillons analysés ont été de taille relativement réduite (8 plantes par descendance). Cette situation ne permet pas de réaliser une analyse détaillée du déterminisme de la résistance trouvée. Cependant, sur la base de l'hypothèse précédente, il est possible de faire quelques commentaires généraux sur l'état de la résistance dans le matériel analysé.

Ainsi, les géniteurs des descendance 70 et 99 ne porteraient pas de gènes de résistance, car ces descendance manifestent la sensibilité la plus élevée et leurs géniteurs présentent les niveaux d'attaque au champ les plus importants (Castillo, communication personnelle).

La descendance 60 et son géniteur présentent les niveaux de résistance les plus importants au laboratoire et au champ, respectivement. Ce matériel posséderait un ou plusieurs gènes de résistance, probablement à l'état homozygote.

Les autres descendance couvrent plusieurs groupes de résistance. Nous pouvons donc prévoir la ségrégation de un ou de plusieurs gènes de résistance.

Cependant, l'existence de gènes mineurs ou de gènes modificateurs dans la population testée n'est pas à exclure. La descendance 62, par exemple, a montré un comportement intermédiaire et uniforme, lequel pourrait être provoqué par la présence de ce type de gènes.

Il faut attirer l'attention sur l'existence d'un niveau important de variation dans la génération F6 issue des croisements avec l'origine H. de T. 1343. Cette situation peut être due en partie, à la diversité des gènes de résistance présents dans cette origine, et à la stratégie d'amélioration suivie. En effet,

les descendances développées en Colombie ont été obtenues par autofécondation, sans l'utilisation des rétrocroisements. Ce système a contribué fortement à maintenir dans la population la résistance en provenance de l'H de T. Au contraire, la seule descendance issue de l'origine H. de T. 832-1 présente une sensibilité très forte ; celle-ci a été obtenue par plusieurs rétrocroisements vers *C. arabica*. Il faut signaler qu'aucun des travaux effectués sur la résistance à la rouille, ne prend en compte l'effet des rétrocroisements sur la perte de la résistance. Cependant, d'après les travaux de ESKES et al. (1989), CARDOSO (1986) et BETTENCOURT (1981), on peut en déduire une perte de résistance proportionnelle aux rétrocroisements effectués.

- \* b) Les géniteurs et leurs descendances appartiennent à des groupes physiologiques différents du groupe E, caractérisés par la présence des gènes de la série SH6-SH9 et supposés responsables de réactions de résistance complète. Dans ce cas, la variation observée indique que ces gènes agissent aussi comme des gènes de résistance incomplète dans certaines conditions (climat et/ou état physiologique des plantes favorables au développement du champignon). Si tel était le cas, la variation observée chez les descendances au laboratoire serait le résultat de la ségrégation des gènes SH6-SH9.

Cette deuxième hypothèse semble être moins probable que la première du fait que les groupes physiologiques ont été établis sur la base des analyses qualitatives des expressions de résistance incomplète bien définies : immunité ou flecks et sensibilité (BETTENCOURT et RODRIGUES 1988). Cependant, la deuxième hypothèse ne peut pas être éliminée avant de faire des études quantitatives pour éclaircir le rapport entre les gènes SH6-SH9 et les expressions de résistance incomplète, surtout dans les conditions du champ.

Les résultats obtenus dans notre travail indiquent aussi que dans la population dérivée de l'origine C-387, il existe une variation inter et intradescendances. La descendance 22 a été la seule possédant des individus résistants. Ce résultat démontre que dans les dérives de l'origine C-387, une résistance du type incomplète, héritée probablement de l'espèce *C. liberica*, existe aussi. En considérant son origine, nous supposons que les gènes qui contrôlent la résistance incomplète dans l'origine C-387 sont différents des gènes existants dans l'H. de T.. L'utilisation de ces gènes sera valable pour augmenter le réservoir de gènes de résistance contre *H. vastatrix*.

## CHAPITRE 4

### DISCUSSION-CONCLUSION

Après avoir présenté un résumé des résultats principaux acquis, nous développerons la discussion et la conclusion générale.

#### 1. Rappel des principaux résultats.

**1.1. Il existe une variation réduite parmi les origines de l'H. de T. pour les caractères enzymatiques.**

Ils présentent un polymorphisme pour les enzymes PAC et PGD. Leur variation est comparable à celle qui peut être observée dans l'espèce *C. arabica* quand on s'adresse au matériel sauvage et au matériel cultivé.

Le polymorphisme observé est insuffisant pour constituer un système de marqueurs enzymatiques qui identifierait les origines de l'H. de T.. Il n'est pas possible non plus de préciser la participation de *C. canephora* dans la formation de cet hybride.

Cette variation, additionnée à celle qui existe probablement pour l'enzyme PPO (GUEDES et RODRIGUES 1974), porte à trois le nombre de systèmes polymorphes de *C. arabica*. Les variétés les plus cultivées en Amérique Latine (Typica, Bourbon et Caturra) sont monomorphes et identiques pour tous les systèmes enzymatiques testés. Cela confirme la base génétique très réduite du matériel cultivé dans ce continent.

**T.2. Pour les caractéristiques d'importance agronomique, la variation est plus nette et la sélection sur les valeurs factorielles est efficace.**

La variation intra-origines est plus importante que la variation inter-origines. En général, la variation de la population s'explique par un système de trois composantes principales qui représentent la vigueur (croissance végétative, production), la fertilité (grains caracoli, loges vides), et la granulométrie (taille des grains). L'origine 1343 est la plus variable pour les caractères enzymatiques et agronomiques car elle a la plus grande dispersion sur les plans factoriels ; proportionnellement, c'est l'origine qui possède la plus grande quantité d'individus intéressants. L'origine H. de T. 2252 est la moins variable pour les caractéristiques enzymatiques et agronomiques et, en même temps, celle qui réunit la plus grande quantité de défauts. Les origines H. de T. 832-1 et 832-2 sont comparables pour leur comportement enzymatique et agronomique, intermédiaire par rapport aux deux autres origines.

Compte tenu des combinaisons des facteurs et de leurs corrélations, la sélection basée sur des variables factorielles produit des résultats différents. Par exemple, une sélection sur la vigueur produirait les changements les plus importants sur de nombreux caractères, certains n'étant pas favorables. La sélection basée sur la fertilité cause des changements plus équilibrés. La sélection pour augmenter seulement la granulométrie provoque une diminution de la production. Les meilleurs résultats sont obtenus en sélectionnant simultanément sur les trois variables factorielles.

Les limites atteintes par la sélection parmi les origines de l'H. de T. sont proches des caractéristiques agronomiques de la variété Typica. Dans toutes les origines, on a identifié des plantes avec un comportement semblable à celui de cette variété.

**1.3. Pour évaluer la résistance incomplète à la rouille, une méthode statistique a été développée qui compare les génotypes par leur profil de comportement par rapport aux variables qui mesurent l'évolution de la maladie.**

Pour cela, il a été fait appel à l'analyse factorielle des correspondances. Cette méthode permet de classer les génotypes selon leur niveau de résistance, de manière objective, selon les paramètres habituellement utilisés pour mesurer l'évolution des maladies ; on a abouti aux mêmes classifications que dans les travaux précédents.

L'évolution de la maladie peut être estimée avec quatre observations seulement faites aux alentours des 12e, 24e, 32e et 42e jours sans que la perte d'information soit importante. Ceci représente une réduction de la quantité d'observations de près de 90%, par rapport à la technique antérieure (une observation journalière). Ce gain de temps permettra l'étude de populations de taille beaucoup plus grande.

Outre la réduction de la quantité d'observations, la méthode développée dans ce travail se différencie du système utilisé dans les études précédentes, réalisées à l'IRCC, car elle permet l'évaluation de descendance hétérogènes. Ce type de descendance ne peut être analysé avec précision quand on utilise l'ajustement à une courbe, telle la courbe logistique. Par rapport au système d'évaluation et d'interprétation des résultats utilisé par ESKES (1983), la méthode que nous avons développée se différencie parce qu'elle permet l'évaluation du comportement des descendance face à la maladie au cours du temps.

**1.4. L'évaluation de la résistance incomplète à la race II d'*H. vastatrix* dans les descendance du croisement entre l'H. de T. et Caturra a permis de détecter une diversité pour l'expression de la résistance.**

La variation peut être représentée dans un plan factoriel qui reflète l'évolution de la taille des pustules et l'intensité de la sporulation. Cette variation va des plantes avec des symptômes de résistance complète jusqu'aux plantes avec des niveaux

d'attaque supérieurs à celui de la variété Caturra. La seule descendance évaluée provenant de l'origine 832 a présenté les niveaux d'attaque les plus élevés. Parmi le matériel dérivé de l'origine 1343, une seule descendance a été totalement sensible, avec un niveau d'attaque comparable à celui de la variété Caturra, les autres avaient des degrés variés de résistance.

Puisque les individus des descendances F5 de Caturra x H. de T. sont susceptibles à la race II de *H. vastatrix*, il faut supposer que la variation génétique parmi leurs descendances F6 est déterminée par des gènes différents de ceux de la série SH6-SH9, qui fonctionneraient avec une dominance incomplète. Les expressions de résistance complète observées dans quelques plantes de la population testée s'expliquent par la condition homozygote de tels gènes, par l'accumulation de plusieurs de ceux-ci, et/ou la combinaison de plusieurs. Cette hypothèse paraît être la plus probable, mais d'autres ne doivent pas être rejetées tant que n'est pas clarifiée la relation entre les gènes SH6-SH9 et les expressions de résistance incomplète. Par exemple, si les géniteurs appartenaient à des groupes physiologiques de résistance différents de E, la variation dans les descendances serait due à la ségrégation de gènes du type SH6-SH9. Ces géniteurs, dans certaines conditions, présenteraient des symptômes de susceptibilité face à la race II.

La même évaluation dans la population dérivée de croisements par l'introduction C-387 met en évidence une résistance de type incomplète. L'origine de ces matériels fait penser que leurs gènes de résistance sont différents de ceux qui existent dans l'H. de T. Pour cela, ils ont un intérêt tout particulier pour augmenter la gamme de gènes de résistance contre *H. vastatrix*.

## 2. Discussion et perspectives.

### 2.1. Sur l'origine de l'Hybride de Timor.

L'origine spontanée de l'H. de T. reste une énigme. Vu son intérêt pour l'amélioration du caféier, la connaissance du processus de sa formation permettrait de créer des matériels similaires. Pour quelques aspects, comme la fertilité et la présence de défauts des grains, l'H. de T. se comporte comme un matériel interspécifique. Pour d'autres caractères, comme l'auto-incompatibilité et le niveau de ploïdie, l'H. de T. n'est pas différent d'une variété de *C. arabica*. Du fait de la résistance complète à la rouille, la participation d'une espèce 2x comme *C. canephora* susceptible d'apporter la résistance et d'avoir été cultivée en mélange avec *C. arabica* semble être une hypothèse probable.

Sur la base des caractères enzymatiques, les résultats obtenus indiquent que le polymorphisme de l'H. de T. est équivalent à celui de certains matériels spontanés de *C. arabica* ; mais il est très limité par rapport à celui de l'espèce *C. canephora*. La faible variation enzymatique trouvée dans l'H. de T. et dans *C. arabica* serait en partie liée à sa structure allopolyploïde et à son mode de reproduction autogame. Une situation similaire a été rencontrée par HAMON (1987) chez le gombo (*Abelmoschus* spp.) : dans ce cas, les espèces cultivées autofertiles d'origine amphiploïde ont montré moins de diversité enzymatique que les espèces spontanées, lesquelles sont allogames et diploïdes. Pour sa part, GOTTLIEB (1977) mentionne que dans la plupart des cas, l'allogamie maintient un taux de diversité enzymatique plus important par rapport à la reproduction autogame. Ce fait a aussi été observé aussi par RICK (1984), chez certaines espèces du genre *Lycopersicum*.

En conclusion, chez l'H. de T. il n'existe aucun marqueur enzymatique spécifique capable d'indiquer ses progéniteurs ou d'expliquer la participation de l'espèce *C. canephora* dans sa création. La solution pourrait venir, dans le futur, de l'utilisation de techniques de marquage génétique qui aient un pouvoir discriminant plus

fort: que les marqueurs enzymatiques, comme la "chromatographie liquide à haute performance" (HPLC) et "le polymorphisme de longueur des fragments d'ADN par l'action des enzymes de restriction" (RFLP). La première technique a été utilisée avec succès dans les études de taxonomie et d'identification variétale pour plusieurs espèces de plantes, notamment chez les céréales (AUTRAN 1986). Son avantage principal est qu'elle peut être utilisée avec différents composants biochimiques, dont quelques-uns liés au système héréditaire, comme les acides aminés (NIELSEN et HURRELL 1985). Sur le caféier, la technique a été employée pour établir un classement du matériel d'après son origine géographique sur la base des acides chlorogéniques (CLIFFORD et JARVIS 1988), et comme un critère taxonomique sur la base de ces acides et de la teneur en caféine (CLIFFORD et al. 1989). Les RFLPs permettent de réaliser des cartes génétiques qui représentent directement la diversité des ADN. Son utilisation s'est étendue à plusieurs espèces de plantes dans les dernières années (BECKMANN et SOLLER 1986).

Vu la difficulté de clarifier l'origine de l'H. de T. grâce aux marqueurs enzymatiques, l'information historique et la génétique de la résistance à la rouille sont les seules données qui permettent de formuler quelques hypothèses sur ce problème. En premier lieu, rappelons que l'espèce *C. arabica* a été introduite à Timor vers les années 1750-60 et les espèces diploïdes *C. canephora* et *C. liberica* vers l'année 1900 ; l'H. de T. s'est probablement créé vers 1927. En deuxième lieu, l'espèce *C. arabica* porte des gènes de résistance spécifique à *H. vastatrix* qui ont été surmontés par les races présentes à Timor depuis l'apparition de la maladie. Vis à vis de ces dernières, les espèces *C. canephora* et *C. liberica* possèdent des gènes de résistance complète, donc on peut faire l'hypothèse que la résistance de l'H. de T. provient d'une de ces deux espèces. Cependant, l'information sur l'évolution de la maladie au début des années 1900 indique que la résistance des plantations de *C. liberica* a été surmontée au cours des trente années qui ont suivi son introduction (CRAMER 1957). Ce fait permet d'écarter cette espèce comme géniteur de l'H. de T. Elle renforce, à son tour, l'idée proposée par différents auteurs (BETTENCOURT 1973 ; GONCALVES et RODRIGUES 1976) que l'espèce *C. canephora* est évidemment un des parents de l'H. de T..

Outre les progéniteurs de l'H. de T., il est intéressant de considérer la façon dont cet hybride a été créé naturellement et son évolution au cours des générations, même s'il s'agit de spéculations. Pour GONCALVES et RODRIGUES (1976) les géniteurs probables de l'H. de T. appartiennent à *C. canephora* variété Robusta et à *C. arabica* variété Typico (?). L'étude génétique réalisée par BERTHAUD (1986) indique que le matériel *C. canephora* introduit à Java correspondrait au type "congolais". Le parent *C. arabica* ne correspond pas nécessairement à la variété Typica cultivée en Amérique. Au contraire, la similitude trouvée dans notre travail entre les zymogrammes de quelques origines spontanées de *C. arabica* et ceux de l'H. de T. permet de supposer qu'une autre source de matériel a pu participer au croisement initial.

Le processus de formation de l'H. de T. par hybridation interspécifique a pu s'opérer de deux façons différentes : soit à partir de la création d'individus triploïdes peu fertiles rétrocroisés plusieurs fois vers l'espèce *C. arabica*, jusqu'à atteindre le niveau tétraploïde et la fertilité de la plante originelle ; soit par un gamète non réduit de l'espèce *C. canephora* combiné avec un gamète de *C. arabica*, donnant une plante 4x qui aurait subi quelques rétrocroisements vers *C. arabica*.

Compte tenu que le processus d'hybridation a été un événement spontané suivi d'une sélection naturelle, le temps disponible pour sa réalisation (30 ans environ) est relativement court avec un nombre limité de générations. Dans ce sens, la voie la plus probable serait celle qui nécessite le plus petit nombre de rétrocroisements pour aboutir à des individus comparables à la "plante originelle" de l'H. de T. possédant un niveau de fertilité et une quantité de défauts des grains intermédiaires. L'évolution à partir des gamètes non réduits semble réunir ces conditions et serait la plus probable. Les gamètes non réduits sont souvent évoqués dans le mécanisme de l'évolution qui conduit à la création d'individus polyploïdes multipliés par la voie sexuelle (de WET 1980 ; LEWIS 1980). Cette forme d'évolution est commune à nombre d'espèces (LEWIS 1980 ; BREWBAKER 1964). Sur le caféier, la production de gamètes non réduits est relativement fréquente (BERTHAUD 1976 ; LOUARN, communication personnelle). Il existe d'autres populations issues d'hybridation interspécifique spontanée, telles que C-387 (KRUG et al. 1950) et

l'hybride Devamachy (BETTENCOURT et RODRIGUES 1988) qui pourraient être également formées par la voie des gamètes non réduits.

En résumé, il est raisonnable de penser que la création de l'H. de T. s'est faite à partir de plantes du groupe "congolais" pour l'espèce *C. canephora* et de plantes d'origine spontanée pour l'espèce *C. arabica*. La nature du croisement spontané de l'H. de T. et le temps disponible pour sa formation, permettent de supposer que l'évolution s'est faite à partir de gamètes non réduits suivie de la réalisation d'un nombre relativement faible de rétrocroisements vers *C. arabica*.

## 2.2. Stabilité de la résistance à *H. vastatrix*.

Les agronomes cherchent avant tout une stabilité de la résistance génétique utilisée dans les variétés. On a observé fréquemment une perte de résistance dans les cultivars liée aux changements dans la diversité de la population des pathogènes. Ce phénomène a fait l'objet de nombreuses études (NAT. ACAD. SCI., 1974). Certains auteurs associent ce phénomène avec la résistance dite verticale ou spécifique qu'ils considèrent instable par nature. Pour des autres, la vraie raison de ce phénomène est la mauvaise utilisation de ce type de résistance dans le cas de cultivars présentant une uniformité génétique excessive. Ce type de cultivars, très utilisés dans l'agriculture moderne, induit de fortes pressions sélectives dans la population des pathogènes. Ces deux points de vue ont donné naissance à deux concepts : a) orientation des efforts vers l'identification et la caractérisation d'un type de résistance stable par nature ; b) réintroduction et utilisation rationnelle de la variabilité génétique chez les cultivars.

En ce qui concerne le premier de ces deux concepts, on sait que la résistance polygénique a conduit chez plusieurs espèces à une protection effective dans le temps. Cependant, on a observé aussi une protection durable contre les pathogènes dans le cas des résistances contrôlées par peu de gènes à effets majeurs ou dans le cas de certaines associations entre ces gènes (NELSON, 1973 ; EENINK, 1977 ; JOHNSON,

1984). Par conséquent, l'expérience actuelle nous montre que la durée de la résistance ne peut pas être associée à un type particulier de déterminisme génétique.

D'autre part, les situations observées, et les études épidémiologiques conduites sur les écosystèmes naturels ont conforté l'idée de l'utilisation de la diversité génétique pour la stabilité de la résistance. En général, dans ces écosystèmes, il existe une grande variabilité tant au niveau des hôtes que des pathogènes. Cependant, l'écosystème est protégé par plusieurs mécanismes de résistance : immunité générale, résistance générale ou non spécifique, résistance spécifique, tolérance et antagonisme entre pathogènes et non pathogènes. Le résultat de tous ces mécanismes, liés les uns aux autres, est appelé "résistance de populations", qui donne une homéostasie à tout le système. Pour ces raisons, les races les plus complexes sont présentes dans la population du parasite mais ne sont pas les races prédominantes. De même chez les hôtes, les plantes qui cumulent de nombreux gènes de résistance ne sont pas prédominantes (BROWNING 1974 a et b). Cette situation montre que tous les mécanismes de résistance contribuent à l'équilibre épidémiologique des écosystèmes naturels. La résistance spécifique joue un rôle principal dans cet équilibre, mais dans l'agriculture, on a commis l'erreur de l'utiliser seule dans des cultivars avec résistance monogénique, raison pour laquelle elle a échoué dans le contrôle des épidémies.

On peut en déduire deux conclusions principales. En premier lieu, la stabilité de la résistance dépend fondamentalement de l'action de différents mécanismes de résistance et pas nécessairement de la nature de la résistance utilisée. En second lieu, la résistance spécifique doit être utilisée seulement dans un système de diversité génétique.

La résistance incomplète à la rouille orangée a été évaluée dans la génération F<sub>6</sub> des croisements entre l'H. de T. et la variété Caturra de *C. arabica*. Les résultats montrent que dans la population testée par la race II de *H. vastatrix*, il existe un niveau important de diversité, qui va des plantes à haut niveau de résistance aux plantes qui présentent des attaques plus fortes que celles observées dans la variété Caturra.

Les matériels testés dans ce travail proviennent d'une population dans laquelle la majorité des plantes possèdent plusieurs gènes de résistance spécifique de la série SH6-SH9. La ségrégation de ces gènes produit de nombreuses combinaisons génotypiques qui forment une population ayant un haut niveau de diversité. Dans cette population, il y a aussi une proportion relativement basse (moins de 5 %) de plantes du groupe physiologique E, sensibles à la race II et donc sans gène du type mentionné ci-dessus. Les géniteurs F5 du matériel F6 testé appartiennent à ce groupe. L'hypothèse la plus probable pour expliquer la résistance rencontrée dans ces descendance est l'action de gènes différents de ceux de la série SH, et qui fonctionneraient avec une dominance incomplète.

La détermination de la nature de la résistance observée dans ce travail est intéressante pour orienter la sélection. Cependant, quelle que soit cette nature, les implications pratiques sont positives. En effet, les résultats obtenus indiquent que dans le matériel Caturra x H. de T. sensibles à la race II, il existe une proportion importante de plantes avec des niveaux d'attaque inférieurs à ceux du témoin Caturra, la variété la plus employée dans les nouvelles plantations. La diversité des gènes de résistance spécifique représente une sécurité, comme le préconise Mac INTOSH (1988), contre la durée variable de la résistance. Cependant, dans le cas éventuel où la résistance à tous ces gènes serait surmontée, la population garde un niveau important de résistance incomplète qui la protège contre la race II, la plus répandue et une des plus agressives.

Il faut souligner que la résistance existant dans l'H. de T. est issue d'une espèce différente de *C. arabica* ; chez cette dernière la résistance n'a généralement pas été durable. Par contre, la résistance de l'H. de T. a été effective jusqu'à ce jour : elle semble donc être de nature stable. On espère, par conséquent, que son transfert à l'espèce *C. arabica* donne aussi des matériels avec une résistance durable.

L'utilisation directe de cette résistance incomplète est facilitée car on la rencontre encore dans le matériel des générations avancées (F6) qui ont des caractéristiques agronomiques favorables. Pour l'utiliser, il suffit d'éliminer seulement les descendance les plus sensibles. Les matériels sélectionnés ne doivent pas être utilisés

séparément, mais en mélange avec les géniteurs porteurs des gènes de résistance spécifique. On espère que tous ces gènes de résistance "additionneront leur action protectrice", ce qui aboutira à une synergie et à une "résistance générale" telle qu'elle est suggérée par BROWNING (1988). Ce modèle s'inspire des cas d'équilibre hôte-parasite étudiés par ce dernier sur les écosystèmes naturels et peut expliquer l'équilibre existant chez les populations de l'H. de T. dans leur lieu d'origine.

En outre, il est probable que les matériels identifiés dans cette étude comme résistants, présenteraient aussi des niveaux d'attaque relativement bas dans une confrontation avec d'autres races. Cette supposition est fondée sur le fait que la race II, la plus commune dans les plantations de *C. arabica* (RODRIGUES 1983), est aussi la plus agressive, quand on la compare aux autres races plus complexes (GIL 1988).

En résumé, les résultats obtenus confirment la nature complexe de la résistance provenant de l'H. de T. et mettent en évidence l'intérêt de l'utilisation de cette ressource génétique pour les programmes d'amélioration ayant pour objectif principal l'utilisation de la diversité génétique pour la stabilisation de la résistance.

### 2.3. Stratégies de la sélection basée sur l'H. de T..

Dans l'amélioration des plantes on a proposé plusieurs stratégies pour l'exploitation de la diversité génétique, qui vont de l'utilisation de la résistance polygénique jusqu'à la culture en mélange d'espèces différentes. Entre ces deux extrêmes, différentes méthodes permettant l'utilisation plus ou moins large de cette diversité sont envisageables : mélange de lignées supposées isogéniques, utilisation de multilignes ayant un haut niveau de similitude, mélange des lignes génétiquement proches et présentant un haut niveau d'uniformité agronomique, culture des variétés avec différentes combinaisons des gènes majeurs, cultures intercalées, utilisation de la distribution géographique des gènes de résistance (WOLF 1988 et 1978 ; FREY et al. 1979 ; GROENEWEGEN et ZADOKS 1979 ; MARSHALL 1977 ; WATSON et SING 1952).

Parmi les stratégies mentionnées plus haut, les multilignes sont les plus répandues. Dans leur forme originale, les multilignes sont formées par le mélange de lignées isogéniques, sauf pour les gènes de résistance recherchés. Le mélange de lignées a été proposé pour augmenter la stabilité de la production (MARSHALL 1977), mais c'est dans le contrôle des épidémies que son utilisation a été la plus importante. Concernant ce dernier point, les multilignes agissent de deux manières :

- i) Elles atténuent le développement des épidémies comme dans le cas des variétés avec résistance spécifique et non-spécifique. Le mélange des plantes résistantes et sensibles réduit l'inoculum initial ( $X_0$ ) et crée des obstacles qui limitent l'accroissement de la maladie (BROWNING 1979 ; GILL et al. 1979 ; LUTHRA et RAO 1979).
- ii) Elles stabilisent les races du pathogène. En théorie, les races avec plusieurs gènes de virulence ont un avantage reproductif important car elles peuvent surmonter plusieurs gènes. Cependant, cet avantage semble être réduit par ce que l'on appelle "pression stabilisante" laquelle agit contre les races les plus complexes lorsqu'elles attaquent des hôtes de génotype simple (VANDERPLANK 1968).

Dans le cas du complexe caféier-rouille, il est probable qu'il existe une pression stabilisante. En effet, BETTENCOURT et RODRIGUES (1988) mentionnent que les races les plus complexes sont les moins fréquentes. D'autre part, dans une expérience en laboratoire, GIL (1988) a trouvé que pour un groupe de races compatibles avec la variété Caturra, les races ayant le nombre de gènes le plus important ont été les moins agressives. Ces observations apaisent les craintes que l'on pouvait avoir quant à l'inaction des gènes de résistance spécifique chez le caféier face aux races les plus complexes d'*H. vastatrix*.

Le caféier étant une culture semi-pérenne, il est nécessaire que la résistance aux maladies soit de nature durable, et pour cela, l'utilisation de la diversité génétique

est une alternative intéressante. La richesse des gènes de résistance de l'H. de T. donne à celui-ci une valeur particulière dans les schémas d'amélioration où la diversité génétique est un objectif important.

Les stratégies générales pour l'utilisation de l'H. de T. sont schématisées sur la Fig. 4-1. Elles s'appuient sur les résultats obtenus au cours de notre travail mais aussi sur l'expérience acquise dans le programme d'amélioration développé en Colombie. L'objectif des réflexions présentées ci-dessous est la création de matériels améliorés grâce à l'H. de T. en leur conservant une base génétique large :

\* a) Sélection pour la valeur propre de l'H. de T..

L'intérêt principal de l'H. de T. dans les programmes d'amélioration de *C. arabica* est la possibilité de transfert de ses caractéristiques agronomiques les plus intéressantes, surtout la résistance aux maladies, vers les variétés de cette espèce. Par conséquent, l'identification des individus supérieurs dans la population de l'H. de T. est un aspect prioritaire : il existe un niveau important de diversité qui se manifeste surtout entre les descendances, et dans certains cas, à l'intérieur de celles-ci. Cette diversité permet d'entreprendre une sélection des meilleurs génotypes. Le succès de l'utilisation de ces plantes dans les programmes d'hybridation dépendra du niveau d'héritabilité des caractères considérés. Cependant, nous avons vu que les génotypes sélectionnés dans la population H. de T. approchent dans les meilleurs cas les caractéristiques de la variété *Typica*. Ces limites sont acceptables pour les caractères du grain mais le sont moins pour la production qui représente seulement 70 % de celle d'une variété productive comme le Bourbon. Ceci met en évidence la nécessité du choix des géniteurs en prenant en compte les caractères liés à la production. Une relation importante entre la production de fruits par plante et de nombreux caractères liés à la croissance et à d'autres considérés comme composantes de la production a été trouvée par WALYARO (1983) chez une population de *C. arabica*. Les corrélations positives entre ces caractères ont permis à cet auteur d'établir des indices de présélection. Cela démontre la nature complexe d'un caractère tel que la production.

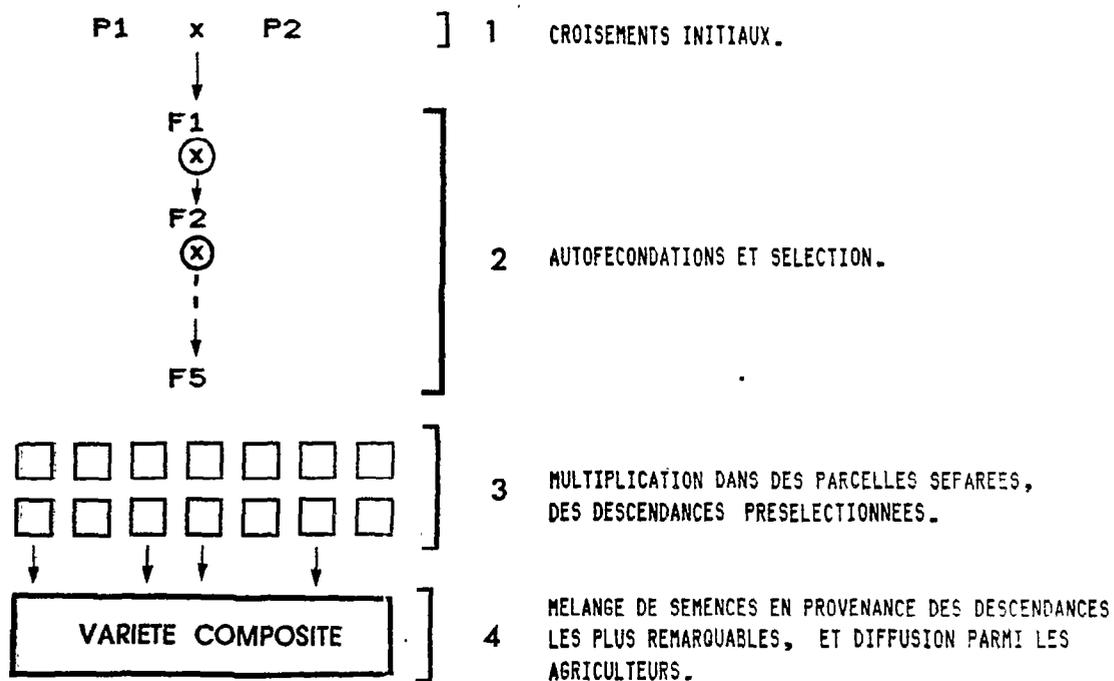


Figure 4-1. Schéma de l'utilisation de l'Hybride de Timor (P1) dans un programme de croisements avec des variétés de *C. arabica* (P2).

Dans notre travail, l'identification des individus les plus remarquables a été faite à l'aide des variables factorielles résultant des analyses en composantes principales. Ces variables quantifient des phénomènes biologiques indépendants qui sont à la source des variations observées. A ce titre, la valeur prise par un caractère - mesure au combien arbitraire de par son choix - est la résultante de ces phénomènes sous-jacents. Par exemple, le caractère de production est la résultante des facteurs "vigueur" et "fertilité". Dans ce sens, les variables factorielles jouent le rôle d'indices. Enfin et surtout, il faut rappeler que les variables factorielles sont orthogonales et que par conséquent la sélection séparée pour chacun des facteurs représente un avantage important.

\* b) Choix des variétés améliorées.

Il s'agit de l'emploi comme géniteurs améliorés des matériels qui s'adaptent à la caféiculture intensive, comme les variétés Caturra et Catuai (P2). Le caractère dominant du gène "Ct", présent dans celles-ci, permet l'obtention de descendances à port nain. Avec ce type de matériel, il est possible d'utiliser des fortes densités de plantation, ce qui aboutit à de fortes productions par unité de surface. En outre, le gène "Ct" manifeste un effet pléiotrope marqué sur de nombreux organes de la plante (longueur des entre-noeuds donc de la taille des plantes, forme, taille et couleur des feuilles, type de ramification), ce qui permet d'uniformiser le phénotype en peu de générations.

Il est indispensable que le fonds génétique apporté par le géniteur amélioré soit élargi. Ceci peut être réalisé au moyen d'hybrides trois voies du type (Caturra x *C. arabica*) x (H. de T.), ou quatre voies du type (Caturra x *C. arabica*) x (Caturra x H. de T.). Ces croisements doivent être utilisés pour introduire d'autres gènes qui renforcent la résistance à d'autres maladies, par exemple, la résistance au CBD.

\* c) Mode de reproduction des générations.

Le maintien pendant le processus de sélection de la diversité obtenue dans le croisement initial est un aspect prioritaire. Pour cela, il existe peu d'alternatives à cause de l'autogamie qui prévaut et qui conduit à l'homozygotie. L'utilisation d'un nombre

excessif de rétrocroisements ne fait qu'accentuer le problème, car cette méthode entraîne un retour vers le géniteur récurrent. Dans le cas des caractères quantitatifs, comme la résistance polygénique, l'emploi excessif des rétrocroisements pourrait causer la perte des gènes insérés. En outre, s'agissant de l'H. de T., l'utilisation des rétrocroisements ne paraît pas être indispensable dans tous les cas, comme l'ont démontré les résultats obtenus en Colombie où les meilleures descendances rétrocroisées ne surpassent pas les meilleures descendances obtenues par autofécondation, en ce qui concerne les caractères agronomiques. Par contre, une augmentation des proportions des individus sensibles à la rouille dans les descendances rétrocroisées a été observée. (CASTILLO et MORENO 1982). Compte tenu des remarques précédentes, la stratégie d'amélioration suivante aide à maintenir la diversité :

- Gestion de populations expérimentales de taille suffisante pour permettre la recombinaison de tous les caractères qui interviennent dans la sélection, spécialement dans la génération F<sub>2</sub>, où le matériel en ségrégation présente l'hétérozygotie la plus forte. Dans une situation idéale, les matériels des générations avancées (F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>) proviendraient de différents géniteurs F<sub>2</sub>, obtenus de chacune des introductions.
- Concentrer et recombinaison les caractéristiques favorables apportées par l'H. de T., en constituant une "population-source améliorée" formée par des croisements d'individus sélectionnés dans les générations F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> ou F<sub>4</sub> de Caturra x H. de T..

\* d) Structure variétale.

La fin du processus d'amélioration est la création de "cultivars composites", par mélange de graines provenant des meilleures descendances agronomiquement compatibles (étapes 3 et 4 de la Fig. 4-1). Avec les cultivars composites on cherche, à la fois à maintenir la diversité génétique efficace contre la rouille orangée et les autres maladies potentiellement importantes, à trouver une stabilité du comportement



PHOTOS 3 et 4. Détail d'une plante remarquable observée à la génération F4 du croisement Caturra x Hybride de Timor (en haut).

Champ de production de semences de la variété COLOMBIA, en Venecia, Colombie (en bas).



**PHOTOS 5 et 6.** Champs d'agriculteurs, plantés avec la variété COLOMBIA, à Chinchina, Colombie.

agronomique dans différents milieux (MORENO et al. 1983) et enfin à maintenir la possibilité de modifier la composition du mélange quand cela sera nécessaire.

Cette stratégie d'amélioration, utilisée actuellement avec succès en Colombie, est proche, en partie, du schéma suivi pour l'obtention des variétés multilignées (BROWNING et FREY 1969). Cependant, le processus que nous défendons et que nous avons exposé ci-dessus, permet de conserver un niveau de variabilité génétique beaucoup plus important. En effet, le système classique d'obtention des multilignes utilise les rétrocroisements répétés ayant comme résultat final des lignées qui ne diffèrent que pour la présence d'un gène majeur (GROENEWEGEN et ZADOKS 1979).

#### 2.4. L'utilisation de la variabilité en provenance d'autres sources.

L'H. de T. provient d'un croisement naturel heureux dans le sens que la population est une synthèse de nombreuses caractéristiques désirables utilisables dans l'amélioration du caféier. Cependant, le fait qu'il provienne d'une seule plante suppose que sa diversité est limitée. La présence d'individus supérieurs dans des populations issues de croisements interspécifiques particuliers, comme C-387, montre qu'il est possible d'utiliser la diversité provenant d'autres sources d'origine interspécifique.

Les programmes d'amélioration de *C. arabica* doivent être prêts à exploiter de nouvelles ressources génétiques calquées sur la formule H. de T., parmi lesquelles les espèces diploïdes se détachent car elles sont les principaux réservoirs de variabilité. Par exemple, dans les espèces *C. canephora*, *C. congensis*, *C. liberica*, *C. dewevrei* et *C. stenophylla* il existe une résistance à la rouille orangée ; l'espèce *C. congensis* est tolérante aux excès d'humidité dans le sol, alors que les espèces *C. racemosa* et *C. rhamnifolia* sont adaptées à des conditions de sécheresse ; des périodes de floraison-fructification extrêmement longues ou courtes se rencontrent respectivement dans les espèces *C. liberica* et *C. zanguebariae* ; les espèces sans caféine sont fréquentes dans le matériel spontané de Madagascar (BERTHAUD 1987).

Les espèces diploïdes pourraient ainsi apporter une amélioration à *C. arabica*. Leur utilisation a été limitée à cause des barrières de stérilité engendrées par

des différences dans les nombres chromosomiques. Les croisements entre *C. arabica* et *C. canephora* ont été les plus utilisés. Pour l'obtention de ces hybrides interspécifiques, on a essayé différentes stratégies d'amélioration, mais jusqu'à maintenant, il n'a pas été possible de produire des matériels améliorés réellement intéressants. Des hybrides entre *C. canephora* dupliqué et *C. arabica* suivi de plusieurs rétrocroisements avec cette dernière espèce ont été développés au Brésil (MONACO et al. 1974), en Côte d'Ivoire (CAPOT 1972) et au Kenya (VAN DER VOSSSEN et OWUOR 1981). La population hybride étudiée au Brésil, appelée Icatu, possède des individus prometteurs qui dans le futur pourraient avoir une utilisation commerciale. L'hybride Arabusta obtenu en Côte d'Ivoire a été prévu pour une utilisation commerciale de la génération F1. Les matériels produits par cette voie présentent des faibles attaques de rouille et des productions acceptables (CAPOT 1972), mais manifestent aussi des taux de défauts élevés des grains. Ces défauts n'ont pu être réduits par sélection (IRCC 1988). D'autre part, des essais pour obtenir des individus 4x à partir d'individus 3x ont été effectués depuis 1923 en Indonésie (CRAMER 1957) et ont été poursuivis en Tanzanie (DOUGHTY 1955), en Inde (NARASIMHASWAMY 1961), en Colombie (OROZCO 1976) en Côte d'Ivoire (BERTHAUD 1978) et au Brésil (MENDES 1947 ; ESKEES et al. 1988). Avec l'approche suivie en Colombie des individus ont été obtenus et semblent intéressants.

Les recherches conduites par le groupe de l'ORSTOM ont enrichi les connaissances sur les relations entre les espèces, ce qui élargit la possibilité d'utiliser d'autres espèces diploïdes pour l'amélioration de *C. arabica*. Ces recherches montrent que le transfert de gènes des espèces diploïdes est possible vers *C. arabica*. Ces transferts pourraient être réussis car les espèces de caféiers partagent un même génome de base (BERTHAUD 1987 ; LOUARN 1982 ; CHARRIER et BERNARD 1981 ; CHARRIER 1978). On pourrait penser que dans l'avenir, les progrès des nouvelles techniques de la biotechnologie faciliteraient le transfert de gènes entre espèces. Si cela s'est déjà réalisé pour certains caractères, dans le cas particulier de la pathologie végétale appliquée, notamment dans la résistance aux maladies, les résultats actuels n'apparaissent pas

suffisamment prometteurs pour fonder beaucoup d'espoirs sur cette approche (CHEVAUGEON 1987).

### 3. Conclusion générale.

L'objectif de ce travail était d'évaluer la diversité existante pour les caractères enzymatiques et agronomiques des origines de l'Hybride de Timor, ainsi que pour la résistance incomplète à la rouille du caféier (*H. vastatrix*) de leurs descendance en croisement avec la variété Caturra. Les résultats obtenus indiquent que, par rapport à ces trois types de caractères, il existe une variation exploitable importante dans ce germoplasme H. de T..

Pour l'évaluation de cette diversité, il a été nécessaire d'améliorer quelques aspects liés à la technique d'électrophorèse d'enzymes chez les caféiers et de développer une méthodologie pour l'évaluation de la résistance incomplète à la rouille, applicable à l'analyse de populations hétérogènes composées de nombreux individus. Nous espérons que le développement de ces deux techniques aura contribué à l'avancement de la recherche caféière.

Ce travail complète les informations sur l'H. de T. et permet donc une utilisation plus rationnelle de cette ressource génétique. Sa diversité pour différentes caractéristiques d'intérêt agronomique démontre qu'il est un matériel approprié pour des programmes d'amélioration et offre des solutions durables à quelques problèmes pathologiques que connaît l'espèce *C. arabica*. En plus, une grande partie de la variation existante est utilisable dans des programmes à court ou moyen terme, ce qui fait de l'H. de T. l'un des ressources génétiques les plus intéressantes actuellement.

Dans le cas particulier de programmes d'amélioration des caféiers qui utilisent la diversité génétique comme stratégie principale, l'information est doublement utile. D'une part, elle apporte des connaissances de base pour améliorer la stratégie de sélection. D'autre part, elle fournit des arguments supplémentaires pour étayer l'utilisation de l'H. de T..

La diversité de l'H. de T. a aussi ses limites face à l'apparition de nouveaux problèmes pour les caféiers ou une aggravation des problèmes actuels. Dans cette perspective, les programmes d'amélioration du caféier Arabica doivent se préparer à exploiter de nouvelles ressources génétiques, parmi lesquelles les espèces diploïdes sont les plus prometteuses grâce à leur diversité génétique.

## BIBLIOGRAPHIE

- ABREU, M. S. de. 1978. Identificação de Parametros para Avaliação da Resistencia Horizontal de *Coffea* sp. a *Hemileia vastatrix* Berk & Br., Tese de Mestrado, UFV, Vicosã, Brazil, 64 p.
- ABREU, M. S. de. 1984. Evidenciação da resistência de progênies de Catimor a *Hemileia vastatrix*, 11° Congr. Bras. Pesq. Caf., 153.
- ANTUNES, Filho , H. 1953. Sementes concha e moca no cafe Mundo Novo. Boletim da Superintendencia dos Servicos do cafe. (Brasil) 28(317):8-16.
- ANTUNES, Filho, H.; CARVALHO, A. 1954. Melhoramento do cafeeiro. VII Ocorrença de lojas vazias em frutos de cafe "Mundo Novo". Bragantia (Brasil) 13(14):165-179.
- ARAÚJO, N. K.; KAISER, A. A.; PEREIRA, J. B.; FERREIRA, A. J. 1981. Productividade de progenies de Catimor portadoras de resistencia ao nematoide *M. exigua* e ao fungo *H. vastatrix*. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 9 Sao Lourenço, M. G. (Brasil) 27-30 Oct. 1981 Resumos Rio Janeiro, pp. 112-114.
- AUTRAN, J. C. 1986. Identification des céréales et autres plantes par électrophorèse. Biofutur (France) pp. 121-126.
- BECKMAN, J. S.; SOLLER, M. 1986. Restriction fragment length polymorphisme and genetic improvement of agricultural species. Euphytica, 35, 111-124.
- BENZECRI, J. P. 1973. L'analyse des données. Tome 2 : L'analyse des correspondances. Dunod, Paris, 616 p.
- BERTHAUD, J. 1976. Comportement méiotique d'un haploïde de *C. arabica*. Café, Cacao, Thé. XX, 2, pp. 91-96.
- BERTHAUD, J. 1979. Comparative characteristic of interspecific tetraploid and hexaploid hybrids *Coffea arabica* L. x *Coffea canephora* Pierre. 8ème Coll. Scient. Intern. sur le Café, ASIC, pp. 571.
- BERTHAUD, J. 1986. Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Ed. de l'ORSTOM. Coll. Travaux et Documents n°188, Paris, 379 p.

- BERTHAUD, J. 1987. Los cafetos diploides : Una nueva fuente de germoplasma para el mejoramiento de *Coffea arabica*. Cultivos Tropicales. Inst. Nal. de Ciencias Agrícolas, Ministerio de la Educacion de la Republica de Cuba. pp. 3-23.
- BERTHOU, F.; TROUSLOT, P. 1977. L'analyse du polymorphisme enzymatique dans le genre *Coffea* : adaptation d'une méthode d'électrophorèse en série: premiers résultats. 8e Colloque Scientifique International sur le Café., Abidjan. A.S.I.C. (Paris), 373-384.
- BERTHOU, F.; TROUSLOT, P.; HAMON, S.; VEDEL, F.; QUETIER, F. 1980. Analyse en électrophorèse du polymorphisme biochimique des caféiers: variation enzymatique dans dix-huit populations sauvages: *C. canephora*, *C. eugenioides* et *C. arabica*. Café Cacao Thé, 24, 313-326.
- BETTENCOURT, A. J.; NORONHA-WAGNER, M. 1971. Genetic factors conditioning resistance of *Coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., *Agronomia lusit.*, 31, 285.
- BETTENCOURT, A. J. 1973. Considerações gerais sobre o "Híbrido de Timor". Campinas, Brasil, Instituto Agronomico de Campinas. Circular Nº 23, 20 p.
- BETTENCOURT, A. J.; NORONHA-WAGNER, M.; LOPES, J. 1980. Factor genetico que condiciona a resistencia do clone 1343/269 (Híbrido de Timor) a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *Broteria-Genetica*, Lisboa (LXXVI) pp. 53-58.
- BETTENCOURT, A. J. 1981. Melhoramento genético do cafeeiro. Transferencia de fatores de resistencia a *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. para as principais cultivares de *Coffea arabica* L., Lisboa Portugal. Junta de Investigações Cientificas do Ultramar, 93 p.
- BETTENCOURT, A. J.; LOPES, J. 1982. Factores genéticos que condicionan a resistencia do Híbrido de Timor a *Hemileia vastatrix* Berk & Br. Colloque Scientifique Internationale Sur le Café, 10. Salvador, Bahia (Brasil), 11 a 14 outubro de 1982. Rio de Janeiro, IBC-GERCA,: 56.
- BETTENCOURT, A. J. 1983. Características agronomicas de seleções derivadas de cruzamentos entre Híbrido de Timor e as variedades Caturra, Villa Sarchi e Catuai. Simposio sobre Ferrugens do Cafeeiro. Oeiras, (Portuga). Oct. 17-20, Oeiras, Centro de Investigacoes da Ferrugens do Cafeeiro, pp. 353-373.
- BETTENCOURT, A. J ; RODRIGUES, C. J. 1988. Principles and practice breeding for resistance to rust and other disease. In. *Coffee Agronomy*, vol.4, Ed. Elsevier Applied Science Publisher Ltd., London-New York, pp. 199-234.

- BIEYSSE, D. 1980. Recherche de caféiers Arabica résistant à la rouille orangée *Hemileia vastarix* Berk et Br. D.E.A., Université Sciences et Techniques du Languedoc, 81 p.
- BORLAUG, N. E. 1964. Basic concepts which influence the choice of methods for use in breeding for disease resistance in cross-pollinated and self-pollinated crops plants. In: NATO/NSF Advance Symposium held the Pennsylvania State University. Proceeding, August 30- September 11, pp. 327-348.
- BOUHARMONT, J. 1963. Somatic chromosomes of some *Coffea* species. *Euphytica*, 12, pp. 254-257.
- BREWBAKER, J. L. 1964. *Agricultural Genetics. Foundation of modern genetics series*, Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, 156 p.
- BREWER, G. J. 1970. *An introduction to isozymes techniques*. Academic press, New York, San Francisco, London, 185 p.
- BROWNING, J. A., FREY, K. J. 1969. Multilines cultivars as a means of disease control. *Annual Review of Phytopathology (EE. UU.)*, 7:355-382.
- BROWNING, J. A. 1974a. Diversity, the only assurance against genetic vulnerability to disease in mayor crops. In: Central State Forest Tree Improvement Conference, 9a Ames, Iowa Satate University.(EE. UU.) 23 p.
- BROWNING, J. A. 1974b. Relevance of knowledge about natural ecosystems to development of pest management programs for agro-ecosystems. *Proceedings of the American Phytopathological Society (EE. UU.)*, 1:191-199.
- BROWNING, J. A.; SIMONS; M. D.; TORRES, E. 1977. Managing host genes: epidemiologic and genetic concepts, In *Plant Disease-An avanced Treatise*, Vol. 1, Horsfall, J. G. and Cowling, E. B., Eds., Academic Press, New York, Chap. 2.
- BROWNING, J. A. 1979. Symposium on use of multilines for reducing rust epidemics. Feb. 1978, New Delhi 110, 12 India, *Discusiones, Indian Journal of Genetics & Plant Breeding (India)*, 39(1):102-109.
- BROWNING, J. A. 1988. Current thinking on the use of diversity to buffer small grains against higly epidemic and variable foliar pathogens: problems and future prospect. In: CIMMYT, 1988, *Breeding Strategies for Resistance to the Rust of Wheat*, México, D. F., pp. 76-90.

- CADENA, G.; BURITICA, P. 1980. Expresion de resistencia horizontal a la roya (*H. vastatrix*) en *Coffea canephora* variedad Conilon. Cenicafé, Chinchiná, Colombia, Vol. 31, n° 1, pp. 3-27.
- CADENA, G. 1982. Distribucion geogràfica de la roya del cafeto *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. Chinchiná, Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Avances Técnicos Cenicafé N° 104, 2 p.
- CAPOT, J. 1972. L'amélioration du caféier en Côte d'Ivoire. Les hybrides "Arabustas". Café, Cacao, Thé. (France) 16(1):3-18.
- CARDOSO, R. M.; SERA, T. 1981. Reaçao de materiais de diferentes especies de *Coffea* a *Fusarium oxysporium* f. sp. *Coffea* (Garcia) Wellmann, no estado do Parana, Brasil. Cong. Bra. Pesq. Caf., 9. Sao Lourenço, M. G.(Brasil), 27-30 Oct., Res. Rio Janeiro, IBC-GERCA, pp. 123-124.
- CARDOSO, R. M. de L. 1986. Novas raças fisiologicas de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. no Brasil, Métodos de identificação e detecção de grupos fisiologicos em cafeeiros derivados do Híbrido de Timor, Tese de Mestrado, UFV. Vicoça. 111 p.
- CARVALHO, A.; MONACO, L. C. 1969. The breeding of arabica coffee. In: Ferwerda, F. P. Wit. F. ed. Outline of perennial crop breeding in the tropics. Wageningen (Holanda), pp. 198-216.
- CARVALHO, A.; MONACO, L. C. 1972. Transferencia do factor Caturra par o cultivar Mundo Novo de *C. arabica*. Bragantia, 31:379-399.
- CARVALHO, A. 1988. Principles and practiques of coffee plant breeding for productivity and quality factors: *Coffea arabica*. In : Coffee Agronomy, Vol 4, Ed. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London-New York, pp. 129-165.
- CASTILLO, J. ; MORENO, G. 1982. Obtencion de materiales de café resistentes a *Hemileia vastatrix* en Colombia en ausencia de la enfermedad. Un programa cooperativo entre CENICAFE y el CIFC. Garcia de Orta, Série Estudos Agronomicos (Portugal), 9(1-2), 119-28.
- CASTILLO, J.; MORENO, G. 1986. La variedad Colombia: seleccion de un cultivar compuesto resistente a la roya del cafeto. Manizales, Cenicafé, 169 p.
- CENTRO DE INVESTIGACOES DAS FERRUGES DO CAFEIRO. OEIRAS 1965. (Portugal). Progress report 1960-1965. Oeiras, CIFC, 144 p.

- CENTI-GROSSI, M.; TASSI-MICCO, C.; SILANO, V. 1969. Albumin fractionation of green coffee seed varieties by acrylamide gel-electrophoresis. *Phytochemistry*, vol. 8, pp. 1749-1751.
- CHARRIER, A. 1978 a. Etude de la structure et de la variabilité génétique des caféiers: Résultats des études et des expérimentations réalisées au Cameroun, en Cote d'Ivoire et à Madagascar sur l'espèce *Coffea arabica* L. colletée en Ethiopie par une mission ORSTOM en 1966. Paris, (France). ORSTOM-IFCC, Bulletin IFCC N° 14. 99 p.
- CHARRIER, A. 1978 b. La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea*). Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine. (*Eucoffea*). Mémoires ORSTOM, Paris, n° 87, 223 p.
- CHARRIER, A.; BERNARD, M. 1981. Hybridation interspécifique et amélioration des plantes. III Amphiploïdes et formes introgressives. Academie d'Agriculture de France, pp. 1025-1040.
- CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. 1985. Botanical Classification of Coffee. In : *Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*, Eds. M. N. Clifford and R. C. Wilson, Croom Helm, London, 1985, pp. 13-47.
- CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. 1988. Principles and methods in coffee plant breeding: *Coffea canephora* Pierre. In : *Coffee Agronomy*, Vol. 4, Ed. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London-New York, pp. 167-197.
- CHAVES, G. M.; BETTENCOURT, A. J.; ZAMBOLIN, M.; CRUZ Filho J da. 1976. Comportamento de progenies F3 do Híbrido "Catimor" recebidos do Centro de Investigações das Ferrugens do Cafeeiro pela Universidade Federal de Viçosa. Cong. Bra. Pesq. Caf. 4. Caxambù, M. G. (Brasil) 23-26 Nov. 1976, Res. Rio Janeiro, IBC-GERCA, pp.220-224.
- CHAVES, G. M.; ALMEIDA, L. C. de; PEREIRA, A. A. 1980. Resistência vertical e horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em gerações F4 e F5 de progenies de cafeeiros Catimor. In *Projeto café, Resumos de trabalhos realizados pelo sistema estadual de pesquisa agropecuária*, EPAMIC-ESAL-UFMC-UFV, Belo Horizonte, MG, Brazil, 179.
- CHEVALIER, A. 1929. Les caféiers du globe. I. Généralités sur les caféiers. Encyclopédia biologique 5. Paul Lechevalier, Paris, 196 p.

- CHEVAUGEON, J. 1987. Utilisation des vitro-méthodes en pathologie végétale pour la recherche de base et l'application. Acad. Agric. Fr., 73, N° 9, pp. 21-32.
- CIMMYT. 1988. Breeding Strategies for Resistance to the Rust of Wheat. México, D. F. CIMMYT, 151 p.
- CLIFFORD, M. N.; JARVIS, T. 1988. The chlorogenic acids content of green Robusta coffee beans as a possible index of geographic origin. Food Chemistry (England), 29:291-298.
- CLIFFORD, M. N.; WILLIAMS, T.; BRIDSON, D. 1989. Chlorogenic acids and caffeine as possible taxonomic criteria in *Coffea* and *Psilanthus*. Phytochemistry, Vol. 28, N° 3, pp. 829-838.
- COFFEE RESEARCH FOUNDATION. 1976. Preselection for CBD resistance by inoculation of the hypocotyl stems 5-6 weeks old seedlings of various material ex CENICAFE, Colombia, received in february 1976. Ruiru, Kenia, Coffee Research Foundation. Letter N° 10110, 27 May 1976. 2p.
- COFFEE RESEARCH FOUNDATION. 1978. Results of the CBD preselection by the inoculation of the hypocotyl stems of 6 week old seedlings. Coffee breeding progenies ex CENICAFE. Ruiru (Kenia), Coffee Research Foundation. Letter 10110, 4 April 1978, 3 p.
- CRAMER, P. J. S. 1957. Review of literature of coffee research in Indonesia. Edited by F. L. Wellman. SIC Ed. Int. American Inst. of Agri. Sci., Turrialba, Costa Rica, 262 p.
- D'ANTONIO, A. M.; PAULA, V. de. 1981. Comportamento de diversas progenies de Catimor em relacao ao ataque de bicho mineiro, *Perileucoptera coffeella* (Guerim-Men 1942) Cong. Bra. Pesq. Caf., 9, sao Lourenço, M. G. (Brasil), 27-30 Oct. 1981, Res. Rio Janeiro, IBC-GERCA, pp. 254-255.
- DOUGHTY, L. R. 1955. Notes on coffee breeding, Unpublished report, EAA, FRO, Nairobi, Kenia, 8 p.
- DUBLIN, P. 1962. Le caféier excelsa en Republica Centrafricaina. La fructification et le fruit. Café, Cacao, Thé (France) 6(1):19-39.
- ECHEVERRI, J. H. 1980. Fitomejoramiento genético del café con énfasis en la resistencia a la roya (*Hemileia vastatrix*) en Méjico, Centroamérica y Panamá. IICA/PROMECAFE, Serie de informes N° 201, San José, Costa Rica, 93 p.

- EENINK, A. H. 1977. Genetics of host-parasite relationships and the stability of resistance. In: Induced Mutations Against Plant Diseases. Symposium, Viena, (Austria), Jan. 31-Feb. 4 of 1977 International Atomic Energy Agency, pp. 47-57.
- ELLINGBOE, A. H. 1981. Changing concepts in host-pathogen genetics, *Annu. Rev. Phy.* 19, 125.
- ESKES, A. B. 1983. Incomplete resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). Wageningen (Holanda) Agricultural University of Wageningen, 140 p. (Doctoral Thesis in Plant Breeding).
- ESKES, A. B.; TOMA-BRAGHINI, M.; LEVY, F. A. 1987. Utilização de triploides para transferir resistência à *Hemileia vastatrix* de *C. canephora* cv Kouillou para o cultivar Catuai de *C. arabica*. Comportamento das gerações F1 e BC1, 14º Cong. Bras. Pesq. Caf. pp. 80.
- ESKES, A. B. 1989. Resistance. In: Coffe rust, epidemiology, resistance and management, Kushalappa, A. C. and Eskes, A. B Ed., CRC press, (sous presse)
- ESKES, A. B.; HOOGSTRATEN, J. G. J.; TOMA-BRAGHINI, M.; CARVALHO, A. 1989. Inheritance of incomplete resistance and race-specificity to coffee leaf rust in some Icatu coffee progenies and derivatives of Híbrido de Timor.(à paraître).
- FAZUOLI, L. C.; LORDELLO, R. A. 1978. Resistencia do cafeeiro Híbrido do Timor a *Meloidogyne exigua*, In: Reuniao Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia, 30a. Res. Ciencia e Cultura (Suplemento) (Brasil) 30(7):02 A.1
- FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. 1983. Evaluacion de resistencia a la Llaga Macana (*Ceratocystis fimbriata*) en Germoplasma de cafe. CENICAFE, Secciones de Fitomejoramiento y Fitopatologia, Chinchina, Colombia, Cenicafé, 2 p.
- FERNIE, L. M. 1977. Coffee breeding program in Eastern Africa. In: Reunion internacional sobre el mejoramiento genético del café (con énfasis en la resistencia a la roya). San José, Costa Rica, 9 p.
- FERWERDA, F. P. 1948. Coffee breeding in Java. *Economic Botany* (EE. UU.) 2(3):258-272.
- FLOR, H. H. 1955. Host parasite interaction in flax-rust. Its genetics and other implications . *Phytopathology* (EE.UU) 45(12): 680-685.

- FLOR, H. H. 1956. The complementary genic systems in flax and flax rust. *Advan. Genet.* 8:29-54.
- FLOR, H. H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Ann. Rev. of Phy.* 9:275-296.
- FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. 1970. *Genetics Resources in Plants*. Blackwell Scientific Publ. Oxford.
- FREY, K. J.; BROWNING, J. A.; SIMONS, M. D. 1979. Management systems for host genes to control diseases loss. *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding (India)* 39(1):10-21.
- GIL, S. L. 1988. Recherches sur la résistance à *H. vastatrix* Berk et Br. de génotypes de *C. arabica* L. d'origines éthiopiennes. Thèse de Docteur Ingénieur, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier, 124 p.
- GILL, K. S.; NANDA, G. S.; SINGH, G.; AUJLA, S. S. 1979. Multilines in wheat, a review. *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding (India)* 39(1):30-37.
- GONCALVES, M. M.; RODRIGUES, M. L.; DAEHNHARDT, E. 1976. Estudos sobre o café de Timor. I. A *Hemileia vastatrix* B. & Br. no território e o melhoramento da cafeicultura face à doença. Lisboa (Portugal), Missao de estudos Agronomicos do Ultramar (Portugal) Comunicações Nº 86: 3-29.
- GONCALVES, M. M ; RODRIGUES, M. L. 1976. Estudos sobre o café de Timor. II. Nota sobre as possibilidades de producao do Hibrido de Timor no seu habitat natural. Lisboa (Portugal). Missao de Estudos Agronomicos do Ultramar (Portugal). Comunicacoes Nº.86: 31-72.
- GRASSIAS-HUBAULT, M. 1980. Etude de la fertilité et du comportement méiotique des hybrides interspécifiques tetraploides Arabusta *C. arabica* x *C. canephora*. Thèse de 3e cycle, Paris XI, Orsay, 98 p.
- GROENEWEGEN, L. J. M.; ZADOKS, J. C. 1979. Exploiting within field diversity as a defense against cereals diseases: A plea for "Poly-genotype" varieties. *Indian Journal of genetics & Plant Breeding (India)* 39(1):81-94.
- GOTTLIEB, D. E. 1977. Evidence for duplication and divergence of structural gene for Phosphoglucumutase in diploid species of *Clarkia* species. *Genetics* 86:289-307.
- GUEDES, M. E.; RODRIGUES, C. J. 1974. Disc electrophoretic patterns of phenoloxidase from leaves of coffee cultivars. *Portugalia Actae Biologica*, (Lisbonne), Serie A, vol. XIII, pp. 169-177.

- HARRIS, M.; HOPKINSON, D. A. 1976. Handbook of enzymes electrophoresis in human genetics. North Holland publishing company, Inc., New York.
- HAMON, S.; ANTHONY, F.; LE PIERRES, D. 1984. La variabilité génétique des caféiers spontanés de la section *Mozambicoffea* A. Chev. I. Précisions sur deux espèces affiniées : *Coffea pseudozanguebarie* Bridson et *C. sp. A.* Bridson. *Adansonia*, 2, pp. 207-223.
- HAMON, S. 1987. Organisation génétique du genre *Abelmoschus* (Gombo) : Co-évolution de deux espèces de Gombo cultivées en Afrique de l'Oest (*A. esculentus* et *A. callie*). Thèse de Docteur es. Sciences, Université de Paris-sud, ORSAY, 217 p.
- IRCC. 1988. Institute de Research du Café et du Cacao, Cotê d'Ivoire, Rapport Annuel 1988, pp. 90.
- JOHNSON, R. 1979. The concept of durable resistance. *Phytopathology*, 69, 198 p.
- JOHNSON, R. 1984. A critical analysis of durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* (EE.UU.) 22:309-330.
- KRUG, C. A.; MENDES, J. E. T.; CARVALHO, A.; MENDES, A. J. T. 1950. Uma nova forma de *Coffea*. *Bragantia* 10:12-25.
- KRUG, C. A.; CARVALHO, A. 1951. The genetics of coffee. *Advances in genetics*, (EE, UU.) Vol. IV:127-158.
- LAMBERTI, F.; WALLER, J. M.; Van der GRAAF, N. A. 1983. Durable resistance in crops, in NATO/ASI Series A: Life Science, Vol. 55, Plenum Press, New York, 454 p.
- LE PIERRES, D.; CHARMETANT, P. 1985. Relations entre la vigueur, la fertilité et la production des Arabustas. 11e Colloque Scientifique International Sur le caféier, Lomé, ASIC, pp. 427-434.
- LEGUIZAMON, C. J. 1983. Contribution à la connaissance de la résistance incomplète du caféier arabica (*Coffea arabica* L.) à la rouille orangée (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.). Thèse Docteur Ingénieur, Ecole National Supérieure Agronomique, Montpellier, 183 p.
- LELIVELD, J. A. F., MEDINA, D. M.; MENDES, A. J. T. 1969. Cytology, gametogenesis and development of seed and fruit. In: Ferwerda, F. P.; Wit, F. ed. *Outlines of perennial crops breeding in the tropics*. Wageningen, (Holanda), pp. 192-197.

- LEWIS, H. W. 1980. Polyploidy in Species Poulation. In : Polyploidy : Biological Relevance, Ed. by Walter H. Lewis, Plenum Press, New York, pp. 103-144.
- LOUARN, J. 1982. Bilan des hybridation interspécifiques entre caféiers africains diploïdes en collection en Côte d'Ivoire. 10e Colloque ASIC, Salvador, Brasil, Oct. 1982, pp. 529-532.
- LOURD, M.; HUGUENIN, B. 1982. La rouille farineuse des caféiers, *Hemileia coffeicola*, en Cote d'Ivoire. Etude de sa repartition et de son pouvoir pathogène. Garcia de Orta. Serie Estudos Agronomicos (Portugal) 9(1-2):71-82.
- LUTHRA, J. K.; RAO, M. V. 1979. Escape mechanisme operating in multilines and its significance in relation to leaf rust. Indian Journal of Genetics & Plant Breeding (India) 39(1):38-49.
- McINTOSH, R. A. 1988. The role of specific genes in breeding for durable resistance in wheat and triticale. In: CIMMYT, 1988, Breeding Strategies for resistance to the Rust of Wheat, México, D. F., pp. 1-9.
- MAINNE, W. W. 1932. Physiological specilization of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. Nature. (England) 129-150.
- MARQUES, D. V. 1980. Resultados preliminares do estudo de resistência a *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. de una progenie F5 de Catiflor, 8° Congr. Bras. Pesq. Caf., 388.
- MARSHALL, D. R. 1977. The adventages and hazards of genetic homogeneity. Annals of New York Academy of Sciences (EE.UU) 287:1-20.
- MENDES, A. J. T. 1946. Partenogenese, partenocarpia e casos anormais de fertilização em *Coffea*. Bragantia, (Brasil), 6(6):265-273.
- MENDES, A. J. T. 1947. Observações citologicas em *Coffea*. XI. Metodos de tratamento pela colchicina, Bragantia, 7, pp. 221.
- MONACO, L.C.; CARVALHO, A.; NOVAES ANTUNES, C. S. 1967. Aproveitamento de uma combinação hibrida interespecifica para fins de melhoramento do cafeeiro. Fitotecnia Latinoamericana, vol. 4, n° 1, pp. 113-121.
- MONACO, L. C. 1977. Consequences of the introduction of coffee rust into Brazil. Annals of the New York Academy of Sciences (EE.UU.) 287:57-71.

- MORENO, G. 1979. Proyecto FM2-7. Estudio del comportamiento agronomico del Híbrido de Timor en diferentes zonas cafeteras de Colombia. Chinchiná (Colombia), Cenicafé. 8 p.
- MORENO, G.; CASTILLO, J.; OROZCO, L. 1983. Estabilidad de la producción de progenies de cruzamientos de Caturra por Híbrido de Timor. Simposio sobre ferrugens do cafeeiro, Oeiras, Portugal, 17-20 Outubro/83, pp. 375-398.
- MULLER, R. A. 1984. Quelques réflexions à propos de la sélection de variétés de caféiers résistantes à la rouille orangée. Café, Cacao, Thé (Paris), XXVII, 1, 17-42.
- NARASIMHASWAMY, R. L. 1961. Coffee leaf disease (*Hemileia vastatrix*) in India. India Coffee, XXV, pp. 382.
- NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCE. 1974. Genetic vulnerability of mayor crops. Washington, D. C. National Academic of Science, 307 p.
- NDMS. 1989. Logiciel statistique à l'usage des biologistes, (à paraître).
- NELSON, R. R. 1972. Stabilizing racial population of plant pathogens by use of resistance genes. Journal of the Environmental Quality (EE. UU.), 1(3):220-227.
- NELSON, R. R. 1973. Breeding plants for disease resistance; concepts and applications, Pennsylvania, (EE. UU.), The Pennsylvania State University, 401 p.
- NIELSEN, H. K.; HURRELL, R. F. 1985. Tryptophan determination of food proteins by HPLC after alkaline hydrolysis. J. Sci. Food. Agr., 36:893-907.
- NORONHA-WAGNER, M. ; BETTENCOURT, A. J. 1967. Genetic study of the resistance of *Coffea* spp. to leaf rust. I. Identification and behavior of four factors conditionig diseases reaction in *Coffea arabica* to twelve physiological races of *Hemileia vastatrix*. Canadian Journal of Botany (Canada). 45:2021-2031.
- OROZCO, F. J. 1976. Utilización del híbrido triploide de *C. arabica* por *C. canephora* en cruzamientos interespecíficos. Cenicafé, Chinchiná, Colombie, 27(4)143-157.
- OWUOR, I. B. O. 1984. Selection for resistance to coffee rust *Hemileia vastatrix* B. et Br., in the breeding programme for resistance to coffee berry disease in Kenya, in Comunicacoes. Simp. Fer., Out.1983, CIFC, Portugal, 475 p.
- PARLEVIET, J. E.; ZADOKS, J. C. 1977. The integrated concept of disease resistance; a new view including horizontal and vertical resistance in plant. Euphytica (Holanda), 26:5-21.

- PARLEVLIET, J. E. 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytophology*, 17:203-222.
- PARLEVLIET, J. E. 1988. Strategies for the utilization of partial resistance for the control of cereals rust. In: CIMMYT. *Breeding strategies for resistance to the rust of wheat*. México D. F. CIMMYT. pp. 48-62
- PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOMME, F.; CATALAN, J.; BRITTON, J. 1987. *Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines*. Lavoisier Tec. Doc., Paris, 217 p.
- PAYNE, R. C.; OLIVEIRA, A. R.; FAIRBROTHERS, D. E. 1973. Disc electrophoretic investigation of *Coffea arabica* and *Coffea canephora*: General protein and malate dehydrogenase of mature seed. *Biochemical Systematics*, vol 1 pp 59-61.
- PAYNE, R. C.; FAIRBROTHERS, D. E. 1976. Disc electrophoretic evidence for heterozygosity and phenotypic plasticity in selected lines of *Coffea arabica* L. *Bot. Gaz.* 137(1):1-6
- PERNES, J.; CHARRIER, A.; COMBES, D.; GUILLAUMET, J. L.; LEBLANC, J. M.; LOURD, M.; NGUYEN VAN, E.; SAVIDAN, Y.; SECOND, G. 1984. *Gestion des Ressources Genétiques des Plantes*. Tome 2, Agence de Cooperation Culturelle et Technique, Paris, 346 p.
- RICK, C. M. 1984. Evolution of mating system: evidence from allozyme variation. *Genetic New Frontiers* (4) : 215-221.
- RIJO, L. 1974. Observações cariológicas no cafeeiro "Híbrido de Timor". *Portugaliae Acta Biologica, Serie A, Vol. XIII, N° 1-2*, pp. 157-168.
- ROBINSON, R. A. 1976. *Plant Pathosystems*, Springer, New York, 184 p.
- RODRIGUES, C. J. ; BETTENCOURT, A. J. ; RIJO, L. 1975. Races of the pathogene and resistance to coffee rust. *Annual Review of Phytopathology*. (E.U.). 13:49-70.
- RODRIGUES, C. J. 1985. *Hemileia vastatrix* : Present situation and prospects of its control with resistant varieties. 11ème, Colloque Scientifique International sur le Café (ASIC), Lomé, Togo, 11-15 janv. 605-614 p.
- ROELFS, A. P. 1988 Resistance to leaf and stem rust in wheat. In: CIMMYT. *Breeding strategies for resistance to the rust of wheat*. México. D. F. CIMMYT. pp. 10-22
- ROMERO, C.; MISTRETTA, T.; MOURA CAMPOS de, T. 1978. Estudo quimiotaxônomico e filogenético do gênero *Coffea*, através da análise de isoenzimas. *Ciencia e Cultura*, (Brasil), Resumos 30ª Reunion anual, vol 30, 7º suplemento, p 526.

- SAVARY, S.; BOSCH, J. P.; NOIROT, M.; ZADOKS, J. C. 1988. Peanut rust in west Africa: a new component in a multiple pathosystem. *Plant Disease*, vol 72 N° 12, 1001 - 1009.
- STEEL, R. G ; TORRIE, J. H. 1981. Principles and procedures of statistics. Ed. Mc Graw-Hill, Singapore, 633 p.
- SYLVAIN, P. 1958. Ethiopian coffee - its significance to world coffee problems. *Economic Botany (EE. UU.)* 12(2):111-139.
- TANKSLEY, D.; ORTON, T.J. 1983. Isozymes in plant genetics and breeding (part A). Amsterdam, Elsevier, 516 p.
- THOMAS, A. S. 1942. The wilde arabica coffee on the Bomma Plateau, Anglo Egyptian Sudan. *Empire Journal of Experimental Agriculture*, Oxford, Vol. 10, N° 40, pp. 207-212.
- VAN DER PLANK, J. E. 1968. Disease resistance in plants. New York, (EE. UU.), Academic Press, 206 p.
- VAN DER PLANK, J. E. 1982. Host-Pathogen Interactions in Plants Disease, Academic Press, New York, 207 p.
- VAN DER VOSSSEN, H. A. M.; WALYARO, D. J. 1980. Breeding for resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica*. II. Inheritance of the resistance. *Euphytica*, 29, 777-791.
- VAN DER VOSSSEN, H. A. M.; OWUOR, J. B. O. 1981. A programme of interspecific hybridization between Arabica and Robusta Coffee in Kenia. *Kenia Coffee*, 46, 541, pp. 131-137.
- VAN DER VOSSSEN, H. A. M.; WALYARO, D. J. 1981. The coffee breeding programme in Kenia: A review of progress made since 1971 and plan of action for the coming years. *Kenia Coffee (Kenia)*, 46(541): 113-130.
- VAN DER VOSSSEN, H. A. M. 1985. Coffee selection and breeding. In: Clifford, M. N.; Wilson, K. C. eds. *Coffee. Botany, biochemistry and production of beans and beverage*. Westport (EE. UU.), The AVI Publishing Company, Inc, pp. 48-96.
- VARZEA, V. M. P.; RODRIGUES, C. J.; MEXIA, J. T. 1985. Evaluation of horizontal resistance to *Hemileia vastatrix* of some Arabica plants of different physiologic groups when confronted with virulent races, ASIC 11° Colloque, Lome.
- VIGNERON, Ph. 1984. Principes de l'électrophorèse et utilisation en génétique forestière. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, n° 204, pp. 38-40.

- VISHVESHWARA, S.; GOVINDARAJAN, A. G. 1970. Studies on Hibrido de Timor Coffee Collection. *Indian Coffee* 34(3):71-78.
- WALYARO, D. J. A.; VAN DER VOSSEN, H. A. M.; OWUOR, J. B. O. 1982. Breeding arabica coffee in Kenia for resistance to coffee berry disease. *Proceeding Reg. Workshop "Coffe Berry Disease"*, 1, Addis Abeba (Etiopia), 19-23 July, 1982, pp. 189-202.
- WALYARO, D. J. A. 1983. Considerations in breeding for improved yield and quality in arabica coffee (*Coffea arabica* L.). Wageningen (Holanda). Landbouwhogeschool the Wageningen, Doctoral Thesis, 119 p.
- WATSON, I. A.; SINGH, D. 1952. The future for rust resistance wheat in Australia. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, (Australia)*, 18:190-197.
- WELLMAN, F. L. 1961. *Coffee. Botany, cultivation and utilization*, London, (England), World Crops Books, 488 p.
- WENDEL, J. F.; STUBER, C. W. 1984. Plant isozymes : Enzymes studied and buffer system for their electrophoretic resolution in starch gels. *Isozyme Bulletin* 7, pp. 4-11.
- WET, J. M. J. de. 1980. Origins of Polyploids. In: *Polyploidy : Biological Relevance*. Ed. by Walter H. Lewis, Plenum Press, New York, pp. 3-15.
- WOLFE, M. S. 1978. Some practical implications of the use of cereal variety mixtures. In: Scott, P. R.; Bainbridge, A. eds. *Plant disease epidemiology*. Oxford, (England), Blackwell Scientific Publications. pp. 201-207.
- WOLFE, M. S. 1988. The use of variety mixtures in control diseases and stabilize yield. In: CIMMYT. *Breeding Strategies for Resistance to the Rust of Wheat*. México, D. F. CIMMYT, 1988, pp.91-99.
- YAPO, A. 1987. Influence du sens du croisement sur la fertilité et le comportement végétatif des hybrides Arabusta. 12<sup>ème</sup> Colloque Scientifique International sur le Café, Montreux, ASIC, 433-440.

## ANNEXE 1

### TAMPON D'EXTRACTION

Tris - HCl	0,2 M
Acide Ascorbique	0,1 M
EDTA	0,1 M
Triton	10,0 %
Mercapto-éthanol	2,0 %

(Ajuster le pH à 7,0 avec HCl)

### TAMPONS DE MIGRATION

IDENTIFICATION	TAMPON D'ELECTRODE		PH	TAMPON DU GEL		PH
1	Acide Citrique	0,49 M	6,0	Histidine	0,05 M	6,0
	Tris	0,15 M		Tris	1 M	
				(Diluer 10 fois)		
2	Acide Citrique	0,043 M	7,0	Diluer le tampon électrode		7,0
	Tris	0,135 M		20fois		
3	Acide Citrique	0,04 M	8,0	Histidine	0,05 M	8,0
	Tris	0,15 M		Tris	1 M	
4	Acide Borique	0,3 M	8,2	Acide Citrique	0,001 M	8,7
	NaOH	0,06 M		Tris	0,15 M	
				(Diluer 2 fois)		
5	Solution A sans diluer		8,3	A = Acide Borique	0,3 M	8,3
				LiOH	0,06 M	
				B = Acide Citrique	0,008 M	
				Tris	0,03 M	
				(utiliser 9 vol B : 1 vol A)		

ANNEXE 2 : Caractéristiques du gel d'Acrylamide  
Système AOD

Gel de dépôt	Acrylamide	9 %
	Bis	0,158 %
	Tampon Tris HCl 61,5 mM pH 6,7	10 %
	Persulfate d'ammonium	0,3 %
	H <sub>2</sub> O q.s.p.	
Gel de concentration	Acrylamide	2,5 %
	Bis	0,625 %
	Tampon Tris HCl 61,5 mM pH 6,7	10 %
	Saccharose	20 %
	Riboflavine	5 x 10 <sup>-4</sup> %
	H <sub>2</sub> O q.s.p.	
Gel de séparation	Acrylamide	9 %
	Bis	0,158 %
	Tampon Tris HCl 37,6 mM pH 8,9	20 %
	Persulfate d'ammonium	0,3 %
	H <sub>2</sub> O q.s.p.	
Tampon d'électrodes	Tris	6,9 mM
	Glycine	54 mM
	pH 8,6	
Conditions de migration		
	50 mA-200 V - 350 pulsations/sec	départ migration
	50 mA-300 V - 500 pulsations/sec	à partir du gel fin
Durée	1 bleu	2 h

TABLEAU 3 : Moyennes ( $\bar{x}$ ) et coefficients de variation obtenus pour quelques caractéristiques d'intérêt agronomique dans des descendance de l'Hybride de Timor et des variétés témoins de *C. arabica* dans une plantation en Colombie.

GENOTYPE		DIAMETRE (cm)		HAUTEUR (cm)		IND. VIGUEUR (dm <sup>2</sup> )		PRODUCTION (kg)		FRUITS VIDES (%)		GRAINS CARACOLI (%)		CAFE SUPREME (%)	
ORIGINE OU VARIETE	DESCENDANCE	$\bar{x}$	cv	$\bar{x}$	cv	$\bar{x}$	cv	$\bar{x}$	cv	$\bar{x}$	cv	$\bar{x}$	cv	$\bar{x}$	cv
HT 832-1	74/1-161	175	7,1	215	7,1	378	12,1	6,6*	9,9	4,6	35,3	10,4	29,5	78,2	7,5
"	" 162	172	13,0	216	7,2	376	18,6	6,6*	8,3	4,1	35,4	11,7	31,3	79,6	6,0
"	" 261	167	16,6	207	8,1	351	23,0	6,4**	13,5	3,7	34,6	8,2	42,1	61,9	24,0
"	" 262	196	15,6	211	7,9	419	20,7	9,6	14,0	5,3	48,7	14,4**	40,5	41,6**	36,8
"	" 263	210	13,0	228	6,9	481	16,5	11,09	10,8	10,4**	116,0	14,8**	20,3	67,1	13,2
"	" 266	175	10,6	216	10,8	382	18,1	6,3**	16,2	3,6	46,1	9,8	25,9	78,9	6,0
"	" 267	193	11,9	206	10,8	403	20,9	8,5	12,7	4,9	51,6	11,1	38,1	68,8	19,5
HT 832-2	Cl. Mer	183	11,6	221	10,5	410	20,1	7,5	15,6	4,6	44,8	17,0**	25,0	61,8	21,4
HT 1343	I-566	196	8,1	230	7,5	455	14,2	10,9	7,3	3,2	26,0	8,2	25,1	85,6	9,0
"	" 567	172	8,8	198*	9,5	344	16,5	7,4	9,5	4,7	53,7	13,6	30,5	69,8	9,5
"	" 570	197	11,2	210	8,3	418	17,3	7,5	7,4	6,3*	68,7	29,7**	35,0	66,0	16,6
"	" 572	187	17,9	202*	15,2	389	29,0	8,4	21,0	7,1**	51,4	36,3**	38,9	53,6*	24,6
"	" 575	198	9,8	225	11,4	450	18,0	8,7	10,3	4,5	57,4	27,5**	33,7	44,9**	20,0
"	" 576	204	9,2	231	6,8	473	13,7	11,6	10,6	4,9	38,4	24,8**	27,9	34,4**	46,5
HT 2252	I-2943	184	7,9	212	7,1	392	11,0	6,1**	10,2	4,3	168,0	19,7**	32,6	41,6**	24,5
"	" 2944	162	11,3	214	9,9	351	18,0	6,9*	8,0	2,1	50,7	16,9**	40,4	38,6**	53,8
"	" 2945	171	13,7	200*	11,5	345	22,7	6,3**	12,9	2,8	51,8	21,8**	39,7	43,2**	42,6
"	" 2946	173	7,2	230	8,8	400	13,9	9,8	8,6	2,2	48,1	16,9**	44,4	41,09**	41,7
"	" 2947	169	11,6	213	9,9	365	19,3	7,1*	13,3	3,6	58,1	15,0**	35,0	37,9**	58,3
"	" 2948	180	10,6	201*	7,8	364	14,7	6,5**	7,9	2,4	80,4	19,3**	26,1	46,3**	28,4
"	" 2949	184	11,6	221	6,4	410	17,5	7,7	12,0	3,7	61,0	13,9*	40,7	42,15**	26,1
"	" 2951	170	10,3	213	7,7	365	16,3	7,0*	8,7	2,2	32,9	7,1	21,9	55,7	23,8
"	" 2953	169	11,9	220	10,1	378	20,3	8,5	16,1	3,0	46,9	8,0	24,9	58,4	11,7
"	" 2964	167	10,7	222	8,7	373	16,2	10,0	10,5	3,5	38,6	9,3	29,7	39,3**	25,3
"	" 2965	173	9,2	219	9,8	383	17,8	10,7	7,4	4,6	63,5	12,3	51,4	50,8**	20,0
"	" 2967	171	8,6	223	7,9	384	13,5	9,8	8,8	3,0	51,5	11,9	52,0	48,3**	31,5
CATURRA		150**	7,5	162**	9,7	246**	16,1	9,9	7,0	2,8	36,9	6,4	21,9	67,0	13,7
CATUAI		151**	10,0	155**	10,8	236**	18,5	9,1	12,3	2,8	45,9	7,5	31,8	67,8	16,1
BOURBON		187	8,7	213	8,5	401	12,6	13,1*	5,2	2,7	55,8	10,5	107,0	49,5**	19,3
TYPICA		187	13,2	233	7,2	440	18,8	10,0	7,3	3,1	98,7	5,8	40,9	73,0	151
1/ "D" Dunnet	P = 95 %	26,5		30,2		98,9		2,88		3,19		7,5		18,0	
"	P = 99 %	32,1		36,8		120,0		3,49		3,87		9,1		21,9	

1/ Utilisée pour comparer chaque descendance avec le témoin Typica

\*, \*\* significatif pour P = 95 % et P = 99 %

**ANNEXE 4** : Résultats principaux obtenus par une ACP réalisée dans la population Hybride de Timor sur plusieurs caractéristiques d'intérêt agronomique.

VARIABLE	FACTEUR 1 (INERTIE = 0,462)		FACTEUR 2 (INERTIE = 0,237)		FACTEUR 3 (INERTIE = 0,18)	
	CORRELATION AVEC LE FACTEUR	CONTRIBUTION RELATIVE	CORRELATION AVEC LE FACTEUR	CONTRIBUTION RELATIVE	CORRELATION AVEC LE FACTEUR	CONTRIBUTION RELATIVE
Diamètre (D)	0,89	0,79	- 0,28	0,08	- 0,14	0,02
Hauteur (H)	0,63	0,40	0,64	0,41	0,26	0,07
Ind. Vig. (IV)	0,97	0,94	0,08	0,01	0,01	0,00
Production (P)	0,77	0,60	0,33	0,11	0,28	0,08
Fruits vides (V)	0,64	0,42	- 0,48	0,23	- 0,38	0,14
Grains caracoli (C)	0,24	0,06	- 0,85	0,73	0,28	0,08
Café suprême (G)	0,09	0,01	0,27	0,07	- 0,91	0,84

ANNEXE 5.: Evolution des différences statistiques entre moyennes ( $\bar{x}$ ) des indices d'intensité de la maladie de 8 génotypes de caféier en fonction de la fréquence d'observation et du nombre de feuilles inoculées par la race II d' *Hemileia vastatrix*

MANIP:	GENOTYPE COMPARE	TOUS LES JOURS						TOUS LES DEUX JOURS					
		8 feuilles		6 feuilles		4 feuilles		8 feuilles		6 feuilles		4 feuilles	
		$\bar{x}$	(1) test	$\bar{x}$	test	$\bar{x}$	test	$\bar{x}$	test	$\bar{x}$	test	$\bar{x}$	test
34	1	144,13	N.S.	143,62	N.S.	142,99	N.S.	144,64	N.S.	144,03	N.S.	143,40	N.S.
	2	148,11		157,01		162,06		150,20		150,97		151,04	
	1	144,13	*	143,62	*	142,99	*	144,64	*	144,03	*	143,40	*
	3	60,13		60,42		60,53		60,45		60,54		60,46	
	1	144,13	*	143,62	*	142,99	N.S.	144,64	*	144,03	*	143,40	N.S.
	4	93,31		102,52		115,26		91,05		99,61		111,01	
	2	148,11	*	157,01	*	162,06	*	150,20	*	150,97	*	151,04	*
	3	60,13		60,42		60,53		60,45		60,54		60,46	
	2	148,11	*	157,01	*	162,06	*	150,20	*	150,97	*	151,04	*
	4	93,31		102,52		115,26		91,05	*	99,61	*	111,01	*
	3	60,13	*	60,42	*	60,53	*	60,45	*	60,54	*	60,46	*
	4	93,31	*	102,52	*	115,26	*	91,05	*	99,61	*	111,01	*
36	5	117,52	*	108,54	*	95,40	N.S.	117,38	*	108,47	*	95,60	N.S.
	6	57,48		67,6		80,97		58,78	*	69,48	*	83,86	N.S.
	5	117,52	*	108,54	*	95,40	N.S.	117,38	*	108,47	*	95,60	N.S.
	7	44,68		52,80		61,22		44,48	*	52,56	*	60,98	N.S.
	5	117,52	*	108,54	*	95,40	*	117,38	*	108,47	*	95,60	*
	8	55,16		58,37		59,82		54,57	*	57,76	*	59,44	*
	6	57,48	N.S.	67,66	N.S.	80,97	N.S.	58,78	N.S.	69,48	N.S.	83,86	N.S.
	7	44,68		52,80		61,22		44,48	N.S.	52,56	N.S.	60,98	N.S.
	6	57,48	N.S.	67,66	N.S.	80,97	N.S.	58,78	N.S.	69,48	N.S.	83,86	N.S.
	8	55,16		58,37		59,82		54,57	N.S.	57,76	N.S.	59,44	N.S.
	7	44,68	N.S.	52,80	N.S.	61,22	N.S.	44,48	N.S.	52,56	N.S.	60,98	N.S.
	8	55,16		58,37		59,82		54,57	N.S.	57,76	N.S.	59,44	N.S.

(1) niveau de signification du test "t" de comparaison de moyennes d'échantillons indépendants possédant des variances inégales, d'après STEEL et TORRIE, 1986.

NS : non significatif pour P = 95 %

\* : significatif pour P = 95 %

ANNEXE 6 :

Calcul de certains paramètres liés au développement des maladies :

. Index d'infection (I.I.) =  $\frac{\text{Nbre de lésions visibles}}{N} \times 100$

où N = Total d'inoculations/feuille

. Taches fructifères (T.F.) =  $\frac{\text{Nbre de lésions sporulantes}}{N} \times 100$

où N = Total d'inoculations/feuille

. Index d'intensité  
de la maladie (I.I.M.) =  $\frac{\sum_{i=1}^{i=7} i(n_i)}{7N} \times 100$

où i = Cotation de 1 à 7 correspondant aux variables de l'échelle BH

ni = Nombre de taches de la cotation i

N = Total d'inoculations/feuille

. Index de sporulation (I.S.) =  $\frac{\sum_{i=1}^{i=4} i(n_i)}{4N} \times 100$

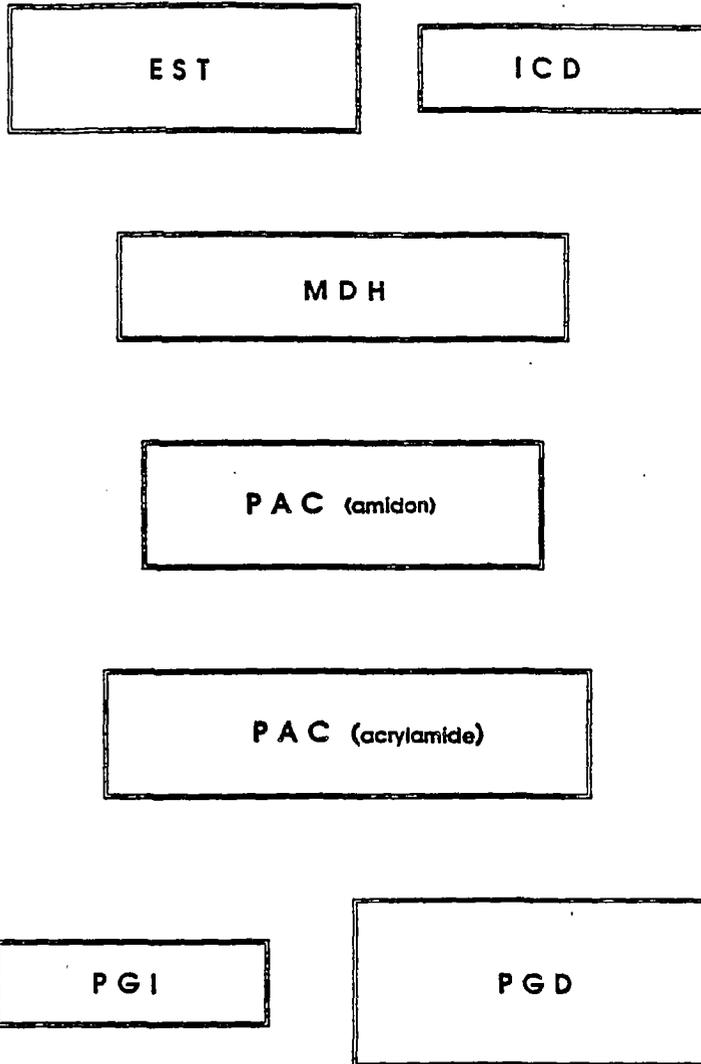
où i = Cotation de 1 à 4 correspondant aux variables liées à la sporulation (E, F, G et H)

ni = Nombre de taches de la cotation i

N = Total d'inoculations/feuille

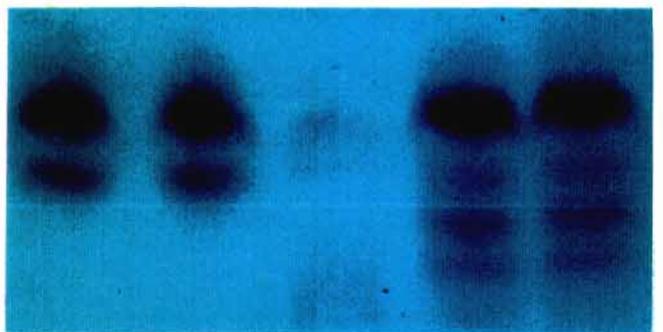
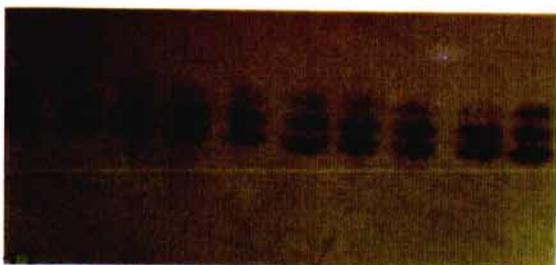
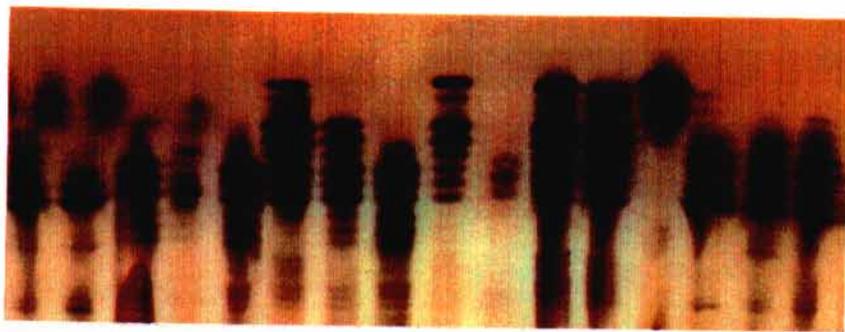
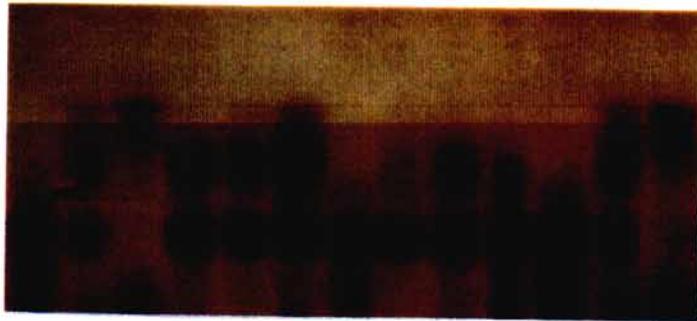
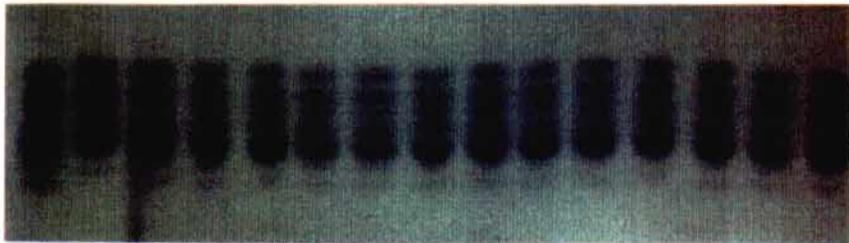
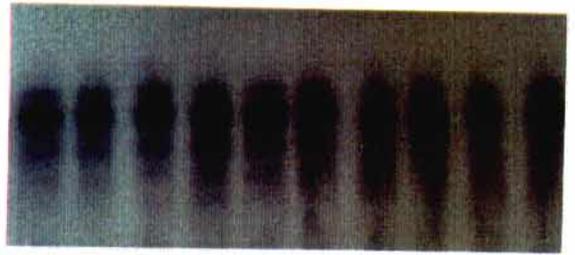
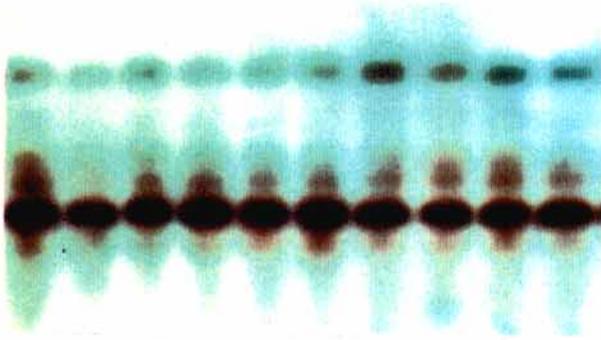
**ANNEXE 7** : Inertie et contribution absolue des variables de l'échelle BH aux facteurs propres 1 et 2, lors de 12 analyses factorielles des correspondances (AFC), réalisées sur des géotypes de caféier inoculés avec la race II d'*Hemileia vastatrix*.

PERIODE.	EXPERIM.	FACTEUR PROPRE	INERTIE %	CONTRIBUTION ABSOLUE DES VARIABLES AUX FACTEURS PROPRES							
				B	C	D	E	F	G	H	
1	1	1	77,0	85,13	3,76	0,43	0,56	5,04	2,82	2,21	
		2	14,3	1,86	3,07	8,47	5,34	0,01	24,19	57,04	
	2	1	71,8	88,15	0,51	2,52	0,40	2,98	2,29	3,13	
		2	16,1	1,16	0,88	23,08	4,93	1,28	6,83	61,83	
	3	1	81,4	83,82	0,07	7,10	0,00	1,76	2,01	5,22	
		2	15,2	5,32	35,87	6,86	11,22	0,13	2,13	38,45	
	4	1	77,4	78,84	1,79	1,71	0,06	0,67	5,53	11,87	
		2	13,3	5,44	7,74	0,06	17,42	22,50	3,25	43,55	
	5	1	83,0	84,23	4,29	0,67	0,03	5,15	2,76	4,85	
		2	12,1	1,78	4,82	1,39	19,18	0,09	0,05	72,66	
	6	1	83,6	88,99	1,70	4,44	0,26	1,43	1,43	1,70	
		2	9,1	0,47	6,49	3,96	9,44	2,61	4,62	72,37	
	7	1	70,9	85,20	2,53	1,72	0,21	4,77	2,70	2,84	
		2	16,7	2,26	5,86	6,23	13,57	3,44	14,69	53,93	
	8	1	69,2	78,88	0,34	3,15	0,47	5,05	4,90	7,17	
		2	21,7	4,69	11,27	8,73	14,91	1,38	15,24	43,81	
2	9	1	57,2	30,00	3,30	3,52	0,09	3,12	14,25	45,70	
		2	30,3	33,34	1,12	37,43	2,63	10,89	0,75	13,81	
	10	1	50,4	4,31	0,32	33,96	3,29	0,81	13,29	43,97	
		2	20,1	30,09	11,37	23,63	15,34	10,60	6,80	2,12	
	11	1	58,9	0,64	3,42	40,14	11,99	0,01	6,40	37,37	
		2	20,1	40,75	4,12	10,82	5,33	18,18	8,92	12,45	
	12	1	57,6	0,86	24,57	23,97	7,01	0,57	9,03	34,06	
		2	26,0	1,45	38,41	7,95	31,40	17,14	1,03	2,59	



**PLANCHE 1.** Zymogrammes caractéristiques des différentes enzymes étudiées sur les origines de l'Hybride de Timor et sur divers matériel de *C. arabica*. (voir photos page suivante).

Pl. 7.



## LISTE DES TABLEAUX, FIGURES, ANNEXES et PHOTOGRAPHIES

### I – FIGURES

- 2-1.** Zymogrammes observés dans l'Hybride de Timor et dans *C. arabica*, pour 5 systèmes monomorphes. **34**
- 2-2.** Zones d'activité et zymogrammes observés dans l'Hybride de Timor et dans *C. arabica* pour les enzymes PAC et PGD. **36**
- 2-3.** Représentation graphique de la contribution à la variation totale des effets "origines", "descendances" et "résiduelle" sur des caractères agronomiques évalués dans la population Hybride de Timor. **53**
- 2-4.** Représentation des descendances de l'Hybride de Timor issues de différentes origines, et de la variété Typica, dans les plans définis par les axes 1-2 (vigueur - fertilité) et 1-3 (vigueur - granulométrie), par l'analyse en composantes principales (ACP). **55**
- 3-1.** Différents stades de lésions pour évaluer l'évolution d'*H. vastatrix* à l'aide de l'échelle "BH". **69**
- 3-2.** Tableaux utilisés pour l'évaluation de la résistance incomplète à la rouille, à l'aide de l'analyse factorielle des correspondances (AFC). **71**
- 3-3.** Evolution de la maladie au cours du temps et localisation dans le plan 1-2 des groupes de résistance après l'inoculation des génotypes avec la race II d'*H. vastatrix*. (expérimentation n° 4) **74**
- 3-4.** Evolution des variables factorielles F1 (taille des lésions) et F2 (quantité de sporulation), sur la variété Caturra inoculée avec la race II d'*H. vastatrix*, pendant les périodes 1 (février-juin) et 2 (août-septembre). **80**
- 3-5.** Profils caractéristiques des groupes de résistance à *H. vastatrix*, issus de la mesure de l'évolution de la maladie à l'aide de l'analyse factorielle des correspondances (AFC).

- 3-6.** Représentation dans le plan 1-2 des descendances Caturra x Hybride de Timor les plus variables pour la résistance à la race II d'*H. vastatrix* et des témoins Caturra, Et 12-4 et Et 12-5. 93
- 3-7.** Représentation dans le plan 1-2 des descendances Caturra x Hybride de Timor les moins variables pour la résistance à la race d'*H. vastatrix* et des témoins Caturra, Et 12-4 et Et 12-5. 94
- 3-8.** Représentation dans le plan 1-2 des descendances Caturra x Hybride de Timor présentant une variation intermédiaire pour la résistance à la race II d'*H. vastatrix*, et des témoins Caturra, Et 12-4 et Et 12-5. 96
- 3-9.** Représentation dans le plan 1-2 des descendances Caturra x C-387, inoculées avec la race II d'*H. vastatrix*, et des témoins Caturra, Et 12-4 et Et 12-5. 97
- 4-1.** Schéma de l'utilisation de l'Hybride de Timor (P1) dans un programme de croisements avec des variétés de *C. arabica* (P2). 119

## 2 – TABLEAUX

- 1-1.** Relation hôte-parasite entre les populations issues de croisements entre *C. arabica* et l'Hybride de Timor et leurs races compatibles, d'après des études réalisées par le CIFC (adapté de Bettencourt, 1981). 9
- 1-2.** Origines de l'Hybride de Timor existant dans la collection de CENICAFE en Colombie et provenant du CIFC au Portugal. 17
- 2-1.** Principales caractéristiques des études électrophorétiques effectuées chez le caféier. 25
- 2-2.** Généalogie du matériel végétal utilisé pour l'étude électrophorétique du polymorphisme enzymatique. 28

- 2-3. Classement des systèmes enzymatiques étudiés et des tampons de migration utilisés en fonction de la qualité des zymogrammes. **32**
- 2-4. Distribution des plantes de l'Hybride de Timor, *C. arabica* et Arabusta, en fonction du type de zymogramme observé pour les enzymes PAC et PGD. **37**
- 2-5. Matériel végétal utilisé pour l'étude des caractéristiques agronomiques de l'H. de T. **43**
- 2-6. Moyennes ( $\bar{X}$ ) et coefficients de variation (CV) des caractéristiques agronomiques de l'hybride de Timor et des variétés témoins. **48**
- 2-7. Comparaison pour quelques caractères agronomiques, des descendance de l'Hybride de Timor avec la variété Typica. **50**
- 2-8. Contribution de chaque composant à la variance générale de plusieurs caractéristiques agronomiques chez la population Hybride de Timor. **52**
- 2-9. Evolution des caractéristiques d'intérêt agronomique de la population de l'Hybride Timor sélectionnée grâce aux variables factorielles F1, F2 et F3. **59**
- 3-1. Matériel végétal utilisé lors des mesures de la résistance incomplète à *Hemileia vastatrix*, race II. **66**
- 3-2. Classement des génotypes de l'expérimentation 4 dans les groupes déterminés par l'AFC, d'après leur profil pour les variables de l'échelle BH. **76**
- 3-3. Analyse de variance des coordonnées factorielles F1 (facteur 1) et F2 (facteur 2) obtenues par l'AFC, des génotypes Caturra et ET 12-5 étudiés lors de différentes expérimentations. **78**
- 3-4. Comparaison de différentes séries de jours d'observation grâce à l'étude de la corrélation ( $r$ ) et de la détermination ( $r^2$ ) entre les coordonnées factorielles F1 et F2 de chaque série. **82**
- 3-5. Comparaison entre les classements de plusieurs génotypes d'après leurs réactions à *Hemileia vastatrix*, obtenus pour deux jours différents. **84**

- 3-5.** Comparaison entre les classements de plusieurs génotypes d'après leurs réactions à *Hemileia vastatrix*, obtenus pour deux jours différents. **84**
- 3-6.** Caractérisation des différents groupes de classement des génotypes résistants à *H. vastatrix* au moyen de la "variable prépondérante" et des autres paramètres. **87**
- 3-7.** Correspondance entre le classement des génotypes de l'expérimentation 11 établi grâce à l'échelle BH et le type de réaction (échelle 0-9) mesuré le jour 36. **90**
- 3-8.** Classement dans différents groupes de résistance à *Hemileia vastatrix* race II, des plantes dérivées des croisements "Caturra x Hybride de Timor" et "Caturra x origine C-387". **91**

### **3 – PHOTOS**

- Photo 1 :** Hybride de Timor. Descendance dérivée de l'origine 1343 ; plante de 4 ans ayant une hauteur de 3 mètres, semées à Chinchiná, Colombie. **44**
- Photo 2 :** Récolte dans un champ planté avec la variété Caturra, à Chinchiná, Colombie. **44**
- Photo 3 :** Détail d'une plante remarquable observée à la génération F4 du croisement Caturra x Hybride de Timor. **122**
- Photo 4 :** Champ de production de semences de la variété COLOMBIA, en Venecia, Colombie. **122**
- Photo 5 et 6 :** Champs d'agriculteurs, plantés avec la variété COLOMBIA, à Chinchiná, Colombie. **123**
- Planche 1 :** Zymogrammes caractéristiques des différentes enzymes étudiées sur les origines de l'Hybride de Timor et sur divers matériel de *C. arabica*. **149**