

### Les caféiers en Afrique : diversité génétique et amélioration des plantes

par Julien BERTHAUD, François ANTHONY, André CHARRIER, Emmanuel COUTURON, Daniel LE PIERRES et Jacques LOUARN

ORSTOM, Centre de Montpellier, BP 5045, F-34032 Montpellier Cedex

**Résumé.** - Des collectes de caféiers sauvages, dans la zone tropicale humide africaine, ont permis de constituer une collection vivante des différentes espèces de *Coffea*. L'étude de leur diversité génétique a été entreprise en utilisant des descripteurs botaniques et enzymatiques, ainsi que des tests d'hybridation interspécifique.

On constate que les espèces de caféiers sont inégalement réparties sur l'ensemble de l'aire de la forêt tropicale humide. A l'intérieur des espèces, une structure génétique peut être mise en évidence, différente d'une espèce à l'autre. En combinant ces résultats aux observations des hybridations interspécifiques, il est proposé une organisation du genre *Coffea* en trois sections. D'une façon générale, une réflexion est menée sur la notion d'espèce et l'évolution de ces espèces, en liaison avec les modifications du paléoenvironnement.

Les conséquences pratiques de ces études pour l'amélioration des caféiers sont les suivantes :

1/ L'introgression des formes cultivées est tentée avec les espèces sauvages possédant des caractères particuliers d'intérêt agronomique.

2/ L'espèce *C. canephora* est constituée de deux groupes et les hybrides F1 entre les deux groupes sont très productifs ; un schéma de Sélection Récurrente Réciproque avec création d'hybrides F1 est donc appliqué.

**Summary.** - A living collection of many *Coffea* species has been assembled after several plant collecting missions in the tropical rain forests of Africa. Study of genetic diversity of these species has been carried out using botanical, biochemical markers as well as interspecific hybridization tests, and incompatibility alleles.

It has been observed that coffee species are unevenly distributed over the tropical rain forest area. Within species, a genetic structure has been shown which differs from one species to another. Genetic markers were also helpful to trace gene flow between and among wild populations of coffee trees.

More generally, we discuss the limitations of gene flow between species, concept of species, and evolution of these species linked with paleoenvironment history.

These studies have given practical results for coffee breeding :

- Introgression of cultivated forms by wild species may be carried out for transferring useful agronomical traits.

- Since it has been found that the *C. canephora* species is structured in two genetic groups, and the potential of F1 hybrids between the two groups is high, a Reciprocal Recurrent Selection scheme may be used for this species.

**Key words :** diversity - genetic resources - isoenzymes - wild populations - breeding strategies.

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 31-778 ex 1

Cote : B M

17 AVR. 1991

## INTRODUCTION

L'étude des caféiers entreprise par l'ORSTOM a eu, à son point de départ, une motivation pratique. Il s'agissait de l'amélioration des caféiers cultivés ; deux espèces, *C. arabica* et *C. canephora*, sont concernées. Pour cela, le choix s'est porté sur l'utilisation de la diversité disponible chez ces espèces et chez les autres espèces existant à l'état sauvage sur le continent africain. On s'est vite rendu compte que les espèces sauvages étaient très mal connues, ce qui a conduit à des études faisant partie du domaine de la botanique - répartition, adaptation écologique, dynamique des populations - et du domaine de la génétique - possibilité d'échanges géniques entre les différentes espèces. Ce sont les résultats de ces recherches qui seront présentés ici.

L'exemple des caféiers est intéressant à plus d'un titre :

- C'est une plante d'intérêt économique. On peut donc envisager des explorations à grande échelle ainsi que la conservation de collections importantes pour des études génétiques à long terme.

- On peut l'utiliser comme modèle de plante pérenne de la forêt tropicale humide africaine. Les résultats observés sur les caféiers devraient être extrapolables, pour partie, à des plantes ayant des distributions comparables - par leur origine ou leur niche écologique - comme le palmier à huile ou les colatiers, mais aussi à des représentants de la flore tropicale humide en général.

L'étude des caféiers sauvages africains a été organisée comme suit :

- Prospection des caféiers sauvages dans leur lieu d'origine.
- Mise en collection et étude de la diversité génétique.
- Analyse de populations sauvages *in situ*.

## MATERIEL ET METHODES

Le matériel à l'étude provient de prospections dans différents pays d'Afrique (Tabl. 1). Le choix des régions à prospector a tenu compte des informations recueillies en herbier. Les prospections ont couvert une partie représentative de l'Afrique de l'Ouest, de l'Afrique du Centre et de l'Afrique de l'Est.

Tableau 1.- Espèces de caféiers prospectés en Afrique par des missions conduites par l'ORSTOM  
Table 1.- *Coffea* species prospected in Africa

| Espèces                              | Pays de prospection                                  |
|--------------------------------------|--|
| <i>C. arabica</i>                    | Ethiopie, Kenya                                      |
| <i>C. brevipes</i>                   | Cameroun   |
| <i>C. canephora</i>                  | Guinée, Côte d'Ivoire, Cameroun, Congo, Centrafrique |
| <i>C. congensis</i>                  | Cameroun, Congo, Centrafrique                        |
| <i>C. eugenioides</i>                | Kenya  |
| <i>C. fadenii</i>                    | Kenya  |
| <i>C. humilis</i>                    | Côte d'Ivoire  |
| <i>C. liberica</i>                   | Guinée, Côte d'Ivoire, Cameroun, Congo, Centrafrique |
| <i>C. mufindensis</i>                | Tanzanie   |
| <i>C. stenophylla</i>                | Guinée, Côte d'Ivoire                                |
| <i>C. zanguebariae</i> (complexe du) | Kenya, Tanzanie                                      |

En Côte d'Ivoire, les prospections se sont étalées sur six années et ont été conduites de façon beaucoup plus détaillée. Il a été ainsi possible de repérer certaines populations de caféiers sauvages et d'observer leur évolution sur plusieurs années.

Les collections sont installées en Côte d'Ivoire, à Divo au centre de la Côte d'Ivoire et à Man, dans l'Ouest, à 1100 m d'altitude. Ces deux localisations permettent de cultiver des caféiers ayant des adaptations écologiques variées. En utilisant des techniques horticoles, telles que le greffage ou la culture sous ombrage, on maintient en collection des espèces moins bien adaptées aux conditions environnementales de Côte d'Ivoire.

## Les marqueurs utilisés :

Les études de diversité génétique s'appuient sur l'observation de marqueurs du génome.

Au début des études, on a considéré les marqueurs morphologiques, appelés aussi descripteurs. On s'est ensuite intéressé à la diversité au niveau cytogénétique, c'est-à-dire au comportement des espèces en hybridation interspécifique. Les critères pris en compte sont : • le taux d'obtention des hybrides ; • la fertilité mâle et femelle des hybrides ; • le comportement méiotique des hybrides en métaphase et anaphase.

On a surtout employé les marqueurs enzymatiques. Les méthodes d'électrophorèse d'enzymes ont été adaptées aux caféiers par Berthou et Trouslot (1977). Les déterminismes génétiques ont été étudiés par Berthou *et al.* (1980) et Berthaud (1986). On dispose en routine de 7 systèmes enzymatiques, correspondant à 9 locus. Des modifications à la méthode ont aussi été apportées par Moreno (1990) : les phosphatases acides et les estérases sont maintenant révélées sur gel polyacrylamide.

Les allèles d'incompatibilité sont d'autres marqueurs de la diversité génétique. Alors que l'espèce tétraploïde *C. arabica* est autocompatible, toutes les espèces diploïdes sont auto-incompatibles. Le contrôle génétique du système est du type gamétophytique monogénique, ce qui a été démontré pour l'espèce *C. canephora* (Berthaud, 1980). L'étude des réactions d'incompatibilité entre arbres d'une même population a permis d'estimer le nombre d'allèles d'incompatibilité en jeu dans une population et donc d'estimer la diversité des populations étudiées.

Des caractéristiques agronomiques intéressantes, telles la résistance aux maladies et la teneur en caféine, ont été prises en compte dans l'étude de la diversité des caféiers.

## RESULTATS

## Distribution des espèces

A partir des observations faites au cours des différentes prospections, ainsi que des recherches conduites dans les herbiers, on constate que la zone Centre Atlantique de l'Afrique est plus riche en espèces que les zones centrale et occidentale. Une autre zone riche en espèces est la zone côtière de l'Océan Indien.

Les espèces de l'ouest et du centre de l'Afrique ont, pour la plupart, une distribution en nappe, alors que les espèces de l'est de l'Afrique ont une distribution de type insulaire. En effet, les caféiers sont inféodés au sous-bois des forêts tropicales. La répartition de celles-ci en Afrique centrale et occidentale est continue. En revanche, en Afrique orientale, on observe une stratification de la végétation en fonction de l'altitude. La forêt correspond à un étage particulier de la végétation (Lind et Morrison, 1974). La distribution de la forêt et, par conséquent, des caféiers est une distribution de type insulaire.

Cette opposition, Afrique de l'Est-Afrique Centrale, est toutefois moins tranchée que ce qui pouvait être imaginé *a priori*. Une espèce du Cameroun, *C. brevipes*, pourrait très bien avoir une distribution de type insulaire. L'espèce *C. humilis* est limitée à une région couvrant la frontière Libéria-Côte d'Ivoire, mais une espèce affine de *C. humilis* est connue au centre de l'Afrique par quatre échantillons d'herbier. Nous reviendrons sur ces distributions après l'étude de la diversité génétique des espèces.

## Les populations sauvages de caféiers

Le travail a porté sur quelques populations en Côte d'Ivoire (Berthaud, 1986). On s'est intéressé :

- à la distribution spatiale des arbres ;
- à leur période de floraison et fructification ;
- aux échanges génétiques entre arbres.

Les arbres ont une distribution hétérogène dans le temps et dans l'espace. On trouve des zones avec une majorité d'arbres jeunes, d'autres avec des arbres adultes sensiblement du même âge. Il existe aussi des arbres isolés.

L'histoire de la population est celle de la forêt, avec ses chablis, permettant la croissance de nouvelles plantules, ou le redémarrage de plantules restées "en attente".

Les échanges géniques sont importants et se font à longue distance. On a pu les tester dans une population de *C. liberica*, grâce aux allèles d'incompatibilité. Un groupe de deux arbres isolés avait été identifié ; l'étude de la descendance de l'un de ces deux arbres a montré que plusieurs arbres, au moins 4, avaient joué le rôle de pollinisateur. La pollinisation s'est donc faite à longue distance.

De même, dans une population de *C. canephora* (Fig. 1), en utilisant les marqueurs enzymatiques et les allèles d'incompatibilité, on a montré qu'une partie des descendance provient de pollinisations par des arbres des plantations environnantes (formes cultivées). Les pollens ont donc parcouru une distance de 1 ou 2 km entre la plantation et la population sauvage en forêt.

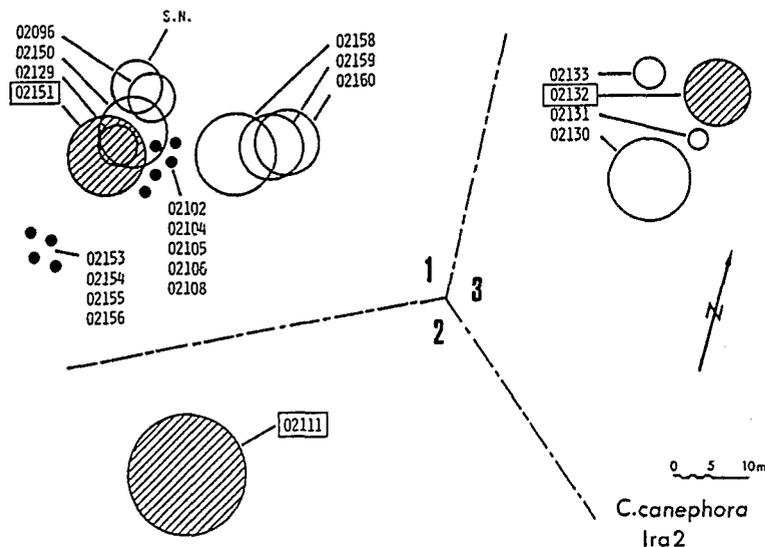


Fig. 1.- Plan de la population sauvage *C. canephora* de la forêt d'Ira, en Côte d'Ivoire  
Fig. 1.- Distribution of wild *C. canephora* in Ira forest (Ivory Coast)

La proportion de pollinisation par vent pollinique étranger est liée à la distance entre arbres. Un arbre relativement isolé a eu un taux de pollinisation externe de près de 50 %, alors que les arbres testés dans les secteurs 1 et 3 avaient des taux de 5 % ou de 20 %.

Cette étude des populations en place montre que :

- dans la forêt, les échanges géniques entre arbres ou entre populations peuvent être importants ;
- la valeur des flux géniques est conditionnée par la distribution spatiale des arbres dans la forêt.

### Les hybridations interspécifiques

Des hybridations interspécifiques ont été tentées avec l'ensemble des espèces disponibles en collection. Il s'agissait de tester l'aptitude de ces espèces à l'hybridation interspécifique et donc d'obtenir une mesure de leur différenciation les unes par rapport aux autres.

#### Les hybrides triploïdes

La figure 2 montre le taux de réussite entre différentes espèces diploïdes et *C. arabica*. On constate qu'il est possible d'obtenir des hybrides triploïdes avec la plupart des espèces.

Les observations cytologiques conduites par Charrier (1976) et par Louarn (à paraître) ont montré que, quelle que soit l'espèce confrontée à *C. arabica*, on obtient une formule méiotique proche de  $11 I + 11 II$ , ce qui tend à prouver que toutes les espèces diploïdes ont un même génome de base, et qu'il existe chez *C. arabica* deux génomes dont l'un serait homologue du génome des *Coffea* diploïdes.

#### Les hybrides diploïdes

Les combinaisons entre espèces diploïdes ont presque toutes été tentées. Les résultats sont récapitulés dans la figure 3. Il a été possible d'obtenir des hybrides entre toutes les espèces. Le taux de réussite diffère selon les espèces mises en présence. Certaines espèces, telle *C. eugenioides*, présentent une meilleure aptitude à l'hybridation interspécifique que d'autres, comme *C. canephora*.

Si nous considérons que les espèces peuvent être regroupées en trois sections (Berthaud, 1986, p. 273), nous parvenons à la présentation synthétique suivante, exposée dans le tableau 2 et la figure 4.

Tableau 2.- Variation du nombre moyen d'univalents observés dans des combinaisons hybrides entre espèces appartenant aux différentes sections du genre *Coffea*.

Table 2.- Variation in univalent numbers observed in hybrids between *Coffea* species.

| Combinaison                       | Univalents |
|-----------------------------------|------------|
| <i>Ery</i> x <i>Erythrocoffea</i> | 0 - 1.8    |
| <i>Ery</i> x <i>Mascarocoffea</i> | 3.0 - 6.0  |
| <i>Ery</i> x <i>Mozambicoffea</i> | 1.5 - 6.0  |
| <i>Mas</i> x <i>Mozambicoffea</i> | 0.5 - 3.3  |

Les freins aux échanges géniques interspécifiques interviennent à différents niveaux (Louarn, 1987) :

- Réussite des hybridations. Cette réussite dépend non seulement des espèces mais aussi des génotypes dans les espèces.
- Régularité de la méiose. Il existe des combinaisons hybrides pour lesquelles la fertilité des hybrides est en relation directe avec la régularité de la méiose.
- Gènes de stérilité. Pour certaines combinaisons, la stérilité n'est pas liée à la qualité de la méiose. Dans la combinaison *C. canephora* x *C. congensis*,

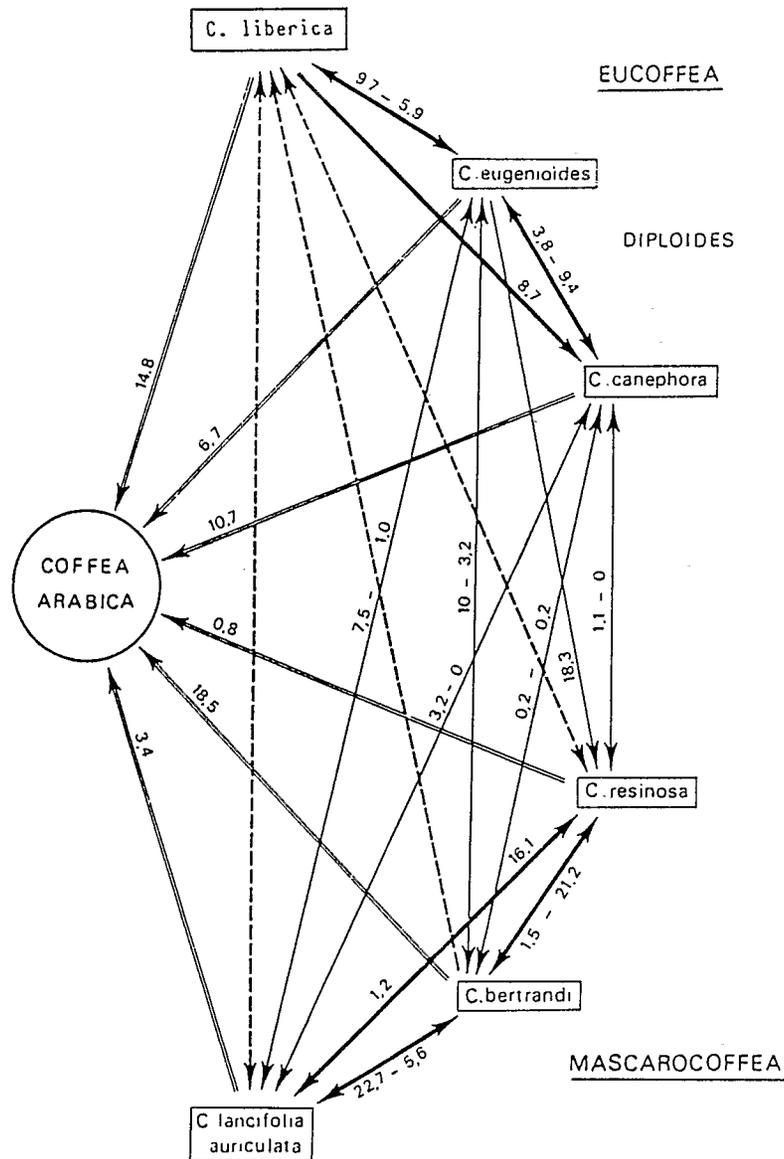


Fig. 2.- Taux de réussite des croisements entre *C. arabica* et les espèces diploïdes de *Coffea* (adapté de Charrier, 1976).

Fig. 2.- Rate of success in crossing between *Coffea arabica* and diploids *Coffea*.

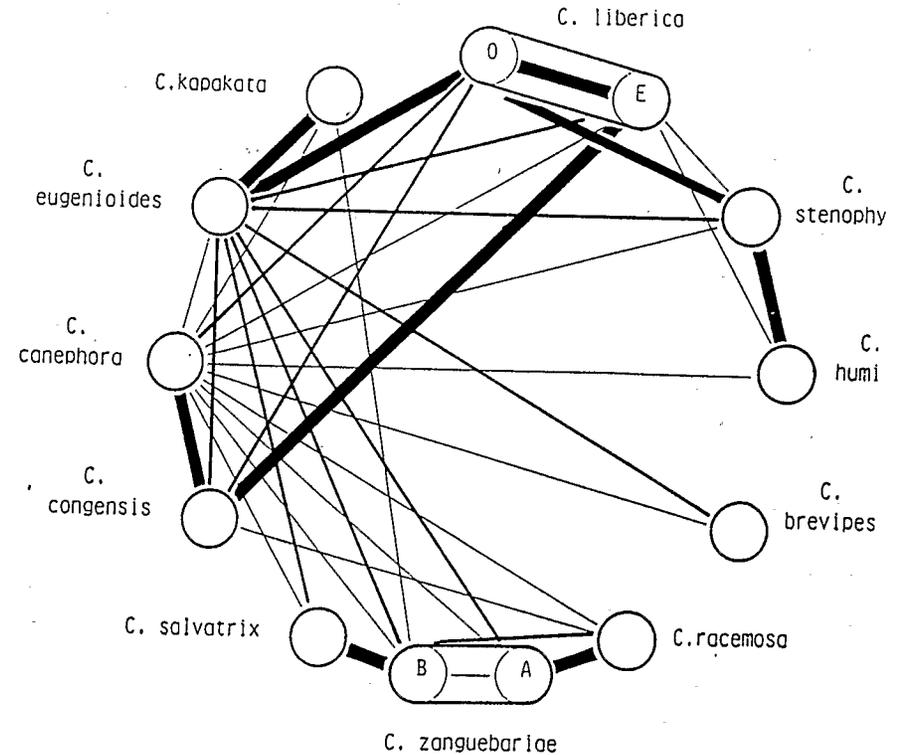


Fig. 3.- Taux de réussite des croisements entre espèces diploïdes de *Coffea* (adapté de Louarn, 1982)

- 19 hybrides et plus pour cent fleurs fécondées
- entre 6 et 18 hybrides
- moins de 6 hybrides

Fig. 3.- Rate of success in crossing between diploid *Coffea* species.

la plupart des hybrides F1 sont fertiles. Toutefois, on trouve dans certains croisements des descendants mâles stériles.

Cette étude des compatibilités entre espèces montre que le taux de réussite des croisements n'est pas lié au taux de stérilité des hybrides.

D'autre part, dans la mesure où il est possible d'obtenir des hybrides entre les différentes espèces de cafiers et que ces hybrides ont des comportements méiotiques comparables, les espèces diploïdes du genre *Coffea* partagent un même génome. Les transferts de gènes entre espèces sont possibles. Une différenciation apparaît toutefois qui tend à prouver le bien-fondé d'un découpage du genre *Coffea* en trois sections.

#### Distances génétiques

*C. canephora*. Grâce à la collecte de plantes dans les populations sauvages du Centre et de l'Ouest de l'Afrique, on dispose d'un échantillon représentatif de cette espèce. L'étude du polymorphisme enzymatique de l'échantillon a montré que ces populations ont fixé un allèle différent à trois locus (sur les neuf

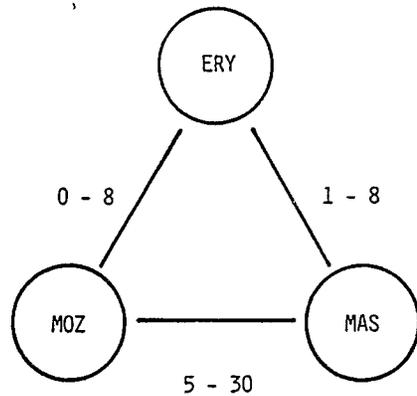


Fig. 4.- Variation des viabilités polliniques observées dans des combinaisons hybrides entre espèces appartenant aux différentes sections du genre *Coffea*.

Fig. 4.- Variation in pollen viability of *Coffea* hybrids.

analysés). La diversité reste importante aux autres locus. Cette situation est illustrée par la figure 5. A l'intérieur de l'espèce, on constitue donc deux groupes, nommés guinéen et congolais (Berthaud, 1986).

**Complexe du *C. zanguebariae*.** Il s'agit des formes ou espèces de la zone côtière de l'Océan Indien. Ces formes sont très peu représentées en herbier. Leur traitement taxonomique est donc incomplet. Du matériel a pu être récolté au cours de nos prospections du Kenya et de la Tanzanie. L'analyse de la diversité enzymatique de ces plantes conduit au dendrogramme suivant (Fig. 6, Anthony, à paraître). On voit donc qu'il existe trois groupes bien distincts. Deux groupes ont un statut d'espèce : *C. sessiliflora* Bridson et *C. pseudozanguebariae* Bridson.

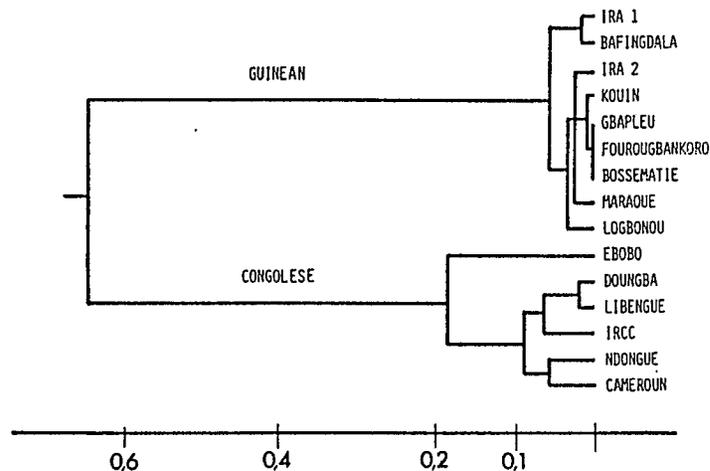


Fig. 5.- Organisation génétique de l'espèce *C. canephora* établie à partir des distances génétiques de Nei entre populations réparties sur l'aire de distribution de l'espèce.

Fig. 5.- Genetic organization in *C. canephora*.

Le troisième, c'est-à-dire les provenances d'Utete, n'a pas reçu de rang spécifique. Si on rajoute une dimension spatiale à cette analyse, on constate que :

- la distribution des populations est de type insulaire. Chaque population est très éloignée de la plupart des autres ;
- des espèces ou formes ont des populations sympatriques. A Shimba Hills au Kenya, les deux espèces *C. sessiliflora* et *C. pseudozanguebariae* se trouvent en mélange ;
- des populations d'une même espèce se retrouvent à de grandes distances. *C. sessiliflora* a été trouvé à Kitulàngalo forest et aux Shimba Hills, c'est-à-dire éloigné de plus de 500 km.

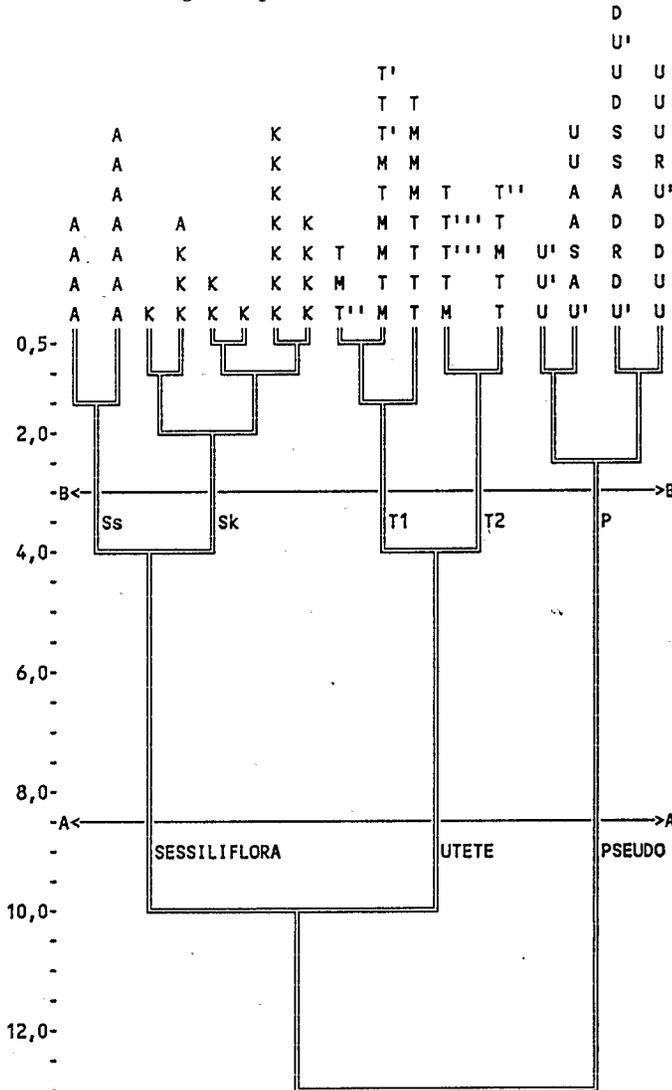


Fig. 6.- Organisation génétique de quelques formes du complexe d'espèces de *C. zanguebariae*. Le dendrogramme a été établi en utilisant une analyse factorielle des correspondances sur les fréquences alléliques des électromorphes (d'après Anthony, à paraître).

Fig. 6.- Genetic organization in some *Coffea zanguebariae*.

L'analyse du polymorphisme enzymatique d'autres espèces a conduit à l'identification de structures génétiques.

*C. liberica*. Cette espèce est constituée de deux groupes dont la répartition se superpose assez bien à celle des groupes de *C. canephora*.

*C. stenophylla*. Cette espèce, limitée au massif forestier guinéen, est aussi constituée de deux groupes : l'un à l'est, l'autre à l'ouest de la Côte d'Ivoire. Il n'existe pas de variation intragroupe.

*C. humilis*. Cette espèce, endémique de l'ouest de la Côte d'Ivoire et de l'est du Liberia, n'est pas structurée en groupes mais montre une diversité génétique importante.

Les groupes génétiques, mis en évidence à l'intérieur des espèces, ne sont pas liés uniquement à la répartition géographique des espèces mais aussi à leur histoire.

## DISCUSSION

### La notion d'espèces chez les caféiers

Au cours de ces différentes études, on a pu observer des freins aux échanges géniques entre les espèces. Certains ont pu être identifiés :

- Distance entre populations d'espèces différentes. De par leur adaptation écologique particulière et leurs aires de répartition, certaines espèces n'ont jamais de contact génétique avec les autres. Quand plusieurs espèces cohabitent dans un même lieu, elles n'occupent pas les mêmes zones. On trouve rarement de vraies populations multispécifiques sympatriques.

- Synchronisme des floraisons. Les floraisons de caféiers sont "déclanchées" par une pluie en saison sèche. La durée entre la pluie et l'anthèse est une caractéristique spécifique. *C. canephora* fleurit 7 jours après la pluie, alors que *C. liberica* ne nécessite que 6 jours. En outre, les périodes de maximum de floraison ne sont pas identiques d'une espèce à l'autre.

Les autres freins aux échanges génétiques s'appliquent à l'obtention des hybrides eux-mêmes ou à la stérilité de ceux-ci. On a vu que certaines espèces se croisent plus difficilement avec les autres, comme *C. canephora*, *C. pseudozanguebariae* et *C. sessiliflora*, deux espèces, ou formes, sympatriques se croisent plus difficilement entre elles qu'elles ne se croisent avec d'autres espèces comme *C. racemosa* ou *C. salvatrix*.

La fertilité des hybrides peut être en liaison avec la régularité de la méiose. Dans ce cas, c'est la différenciation chromosomique entre les espèces qui induit la stérilité des hybrides. Dans d'autres cas, la stérilité des hybrides interspécifiques apparaît alors que la méiose est régulière ; l'action de gènes particuliers peut en être la cause.

Pour la combinaison *C. canephora* x *C. congensis*, aucune stérilité n'est observée. Les freins à l'hybridation entre espèces sont qualitativement très variés et de puissance inégale. Il en découle une difficulté à trouver une séparation nette entre espèces en n'utilisant qu'un seul critère du type : se croise - ne se croise pas. La différenciation morphologique ne s'accompagne pas toujours d'une différenciation génétique et réciproquement.

En même temps qu'il existe des freins à l'hybridation interspécifique, on observe la présence de groupes génétiques à l'intérieur des espèces. Il faut donc en déduire qu'il existe aussi des freins aux échanges géniques à l'intérieur des espèces permettant la permanence de ces groupes. Ces freins peuvent être simplement une isolation géographique actuelle ou à certaines époques de l'histoire des espèces concernées. L'étude du paléoenvironnement fournit des raisons de croire que les fluctuations du milieu forestier ont permis des isolements génétiques successifs entre les espèces et à l'intérieur des espèces (Maley, 1987 ; Berthaud, 1986).

### Les applications pratiques de ces recherches

Le fait que toutes les espèces diploïdes peuvent se croiser entre elles et partagent un même génome, permet d'envisager des transferts de gènes et de développer des variétés commerciales où interviendraient plusieurs espèces. Les hybrides Congusta (Cramer, 1948) en sont un exemple. Les hybrides de ce type pourront être améliorés grâce à l'utilisation de la diversité génétique accumulée au cours des différentes prospections.

Une autre conséquence à l'existence d'un seul génome de base est la possibilité d'utiliser les espèces diploïdes et hybrides interspécifiques diploïdes en croisement avec *C. arabica* dans des combinaisons de type Arabusta. Les premiers Arabusta ont été créés par Capot (1972). En combinant *C. arabica* à d'autres espèces, de nouveaux progrès sont à espérer (Le Pierrès, 1982).

L'analyse génétique de l'espèce *C. canephora* a mis en évidence deux groupes génétiques bien identifiables chez cette espèce : les groupes guinéen et congolais. Ce sont les hybrides F1 entre ces deux groupes qui apparaissent comme les plus productifs. En conséquence, un schéma d'amélioration de cette espèce par sélection récurrente réciproque a été mis en place.

## CONCLUSIONS

Les résultats obtenus fournissent des informations et des outils pour poursuivre des études sur : • la taxinomie du genre *Coffea* ; • les populations sauvages de caféiers *in situ* ; • la structure génétique et l'amélioration des espèces du genre *Coffea*.

## BIBLIOGRAPHIE

- BERTHAUD J., 1980.- L'incompatibilité chez *C. canephora* : méthode de test et déterminisme génétique. *Café, Cacao, Thé*, 24, 267-274.
- BERTHAUD J., 1986.- Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes : évaluation de la richesse génétique des populations sylvestres et de ses mécanismes organisateurs. Conséquences pour l'application. *Travaux et Documents de l'ORSTOM*, n° 188, 372p.
- BERTHOU F. et P. TROUSLOT, 1977.- L'analyse du polymorphisme enzymatique dans le genre *Coffea* : adaptation d'une méthode d'électrophorèse en série : premiers résultats, 8ème Coll. ASIC, Abidjan, 373-384.
- BERTHOU F., P. TROUSLOT, S. HAMON, F. VEDEL et F. QUETIER, 1980.- Analyse en électrophorèse du polymorphisme biochimique des caféiers : variation enzymatique dans dix-huit populations sauvages ; variation de l'ADN mitochondrial dans les espèces : *C. canephora*, *C. eugenioides* et *C. arabica*. *Café, Cacao, Thé*, 24, 313-326.
- CAPOT J., 1972.- L'amélioration du caféier en Côte d'Ivoire. Les hybrides Arabusta. *Café, Cacao, Thé*, 16, 16-18.
- CHARRIER A., 1976.- La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea*). Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (*Eucoffea*). *Mém. ORSTOM*, n° 87, 223p.
- CRAMER P.J.S., 1948.- Les caféiers hybrides du groupe Congusta. *Bull. Agr. Congo Belge*, 39, 29-48.