

NOTE SUR LES PREMIERS HAPLOÏDES SPONTANÉS DÉCOUVERTS CHEZ LE *COFFEA CANEPHORA* VAR. *ROBUSTA*

P. DUBLIN

Directeur de recherches ORSTOM

Chef du Laboratoire de biologie cellulaire de l'IFCC en Côte d'Ivoire.

J. P. PARVAIS

Ingénieur agronome, Dr en physiologie végétale

Laboratoire de biologie cellulaire de l'IFCC en Côte d'Ivoire

Introduction

Parmi les différentes espèces de caféiers cultivés dans le monde, le *Coffea canephora* occupe la deuxième place, tant par les surfaces plantées que par le volume produit.

Cette espèce, dont la variété Robusta est la plus répandue, joue un rôle important dans l'économie de plusieurs pays africains (Côte d'Ivoire, Ouganda, Madagascar, etc.).

Comparativement à l'Arabica, cette espèce polymorphe est caractérisée par une rusticité plus grande, une meilleure adaptation aux conditions écologiques de basse altitude et des potentialités de production probablement supérieures.

Du point de vue génétique, cette espèce revêt un intérêt de premier plan pour le transfert, chez l'Arabica, des gènes de résistance à la rouille (*Hemileia vastatrix*) (Carvalho et Monaco, 1971) et pour la création d'hybrides interspécifiques *C. arabica* × *C. canephora* (Capot, 1972).

A l'heure actuelle, l'amélioration du *C. canephora* comprend une voie dite « végétative », visant à la création de clones de valeur, et une autre dite « générative », dont le but est l'obtention

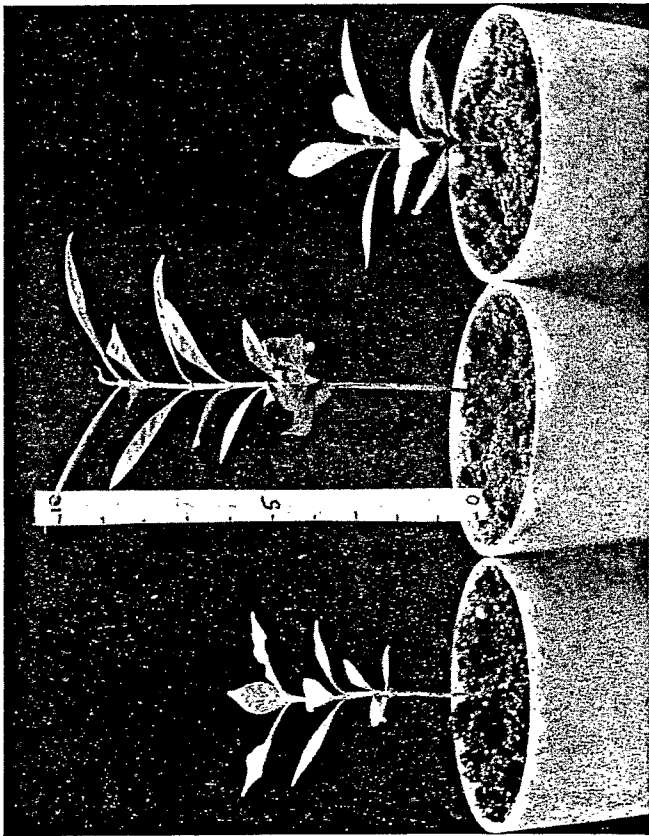
d'hybrides haut producteurs (IFCC, 1963 ; Dublin, 1967).

Les caféiers canéphoroïdes sont tous diploïdes ($2n = 22$), auto-incompatibles et fortement hétérozygotes. Les semences dites hybrides, issues de combinaisons biparentales, conduisent alors à des populations de grande diversité génétique, fournissant un produit hétérogène.

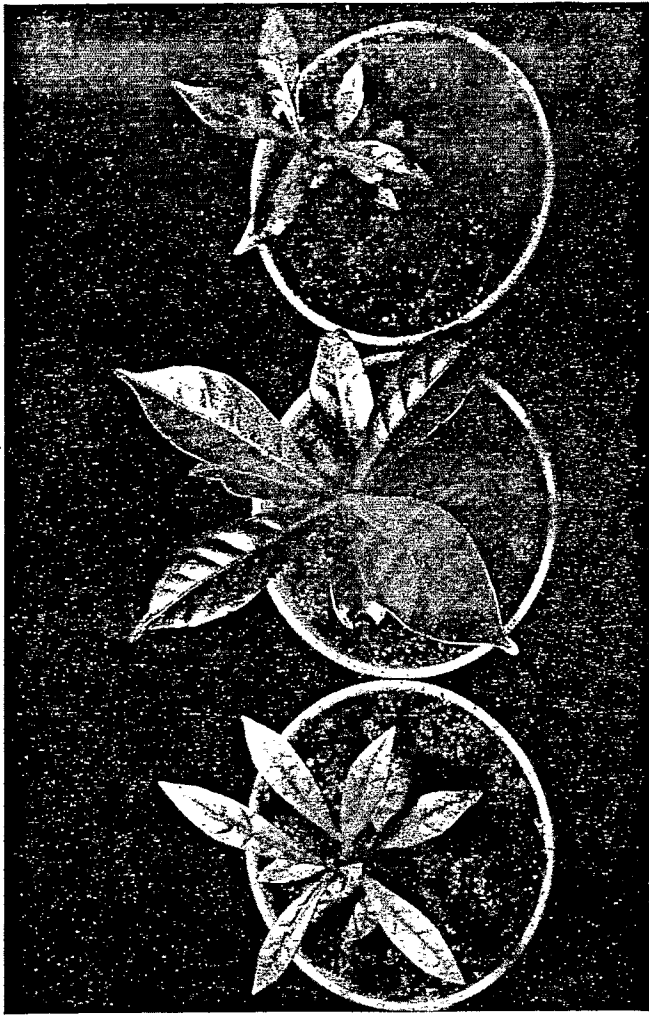
L'obligation, dans le cas de plantations clonales, de faire un mélange de génotypes intercompatibles, présente bon nombre de servitudes supplémentaires : synchronisme de floraison, exigences nutritives identiques (Forestier et Beley, 1969). Ces plantations polyclonales, d'un coût d'installation toujours élevé, conduisent, en dépit de certains avantages agronomiques, à un produit également hétérogène.

Seule l'obtention de génotypes homozygotes permettra la création d'hybrides génétiquement identiques, à hétérosis maximale et de vulgarisation facile et peu coûteuse.

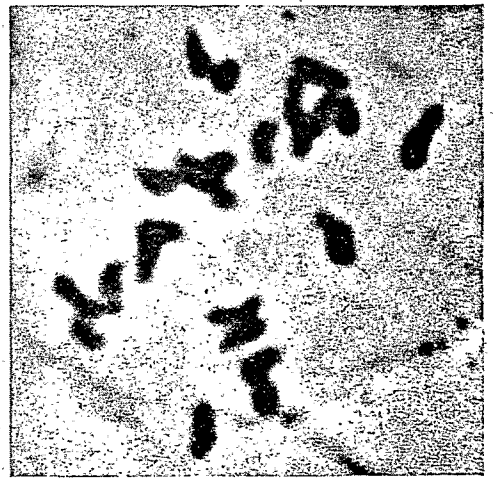
Compte tenu de la longueur du cycle de reproduction et de l'existence de barrières d'incompati-



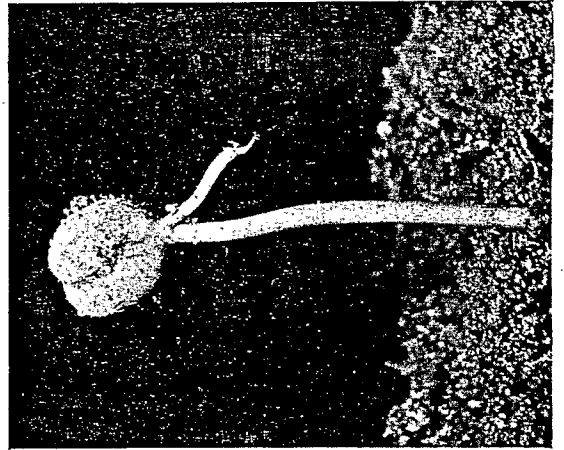
1



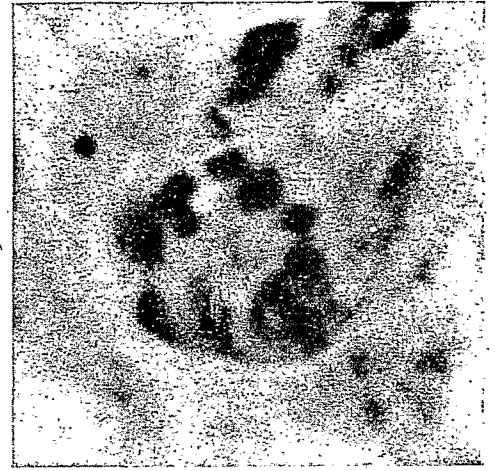
2



3



4



5

bilité chez ces caféiers, les procédés classiques d'épuration (« self » et « sib crossing ») se révèlent difficilement applicables.

Dans un tel contexte, on peut penser que le recours aux haploïdes diploïdisés pourrait constituer la meilleure voie pour l'obtention de géniteurs homozygotes, dans un délai de temps acceptable et à moindre frais.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris de rechercher des haploïdes chez cette espèce, en portant d'abord nos investigations sur l'haploïdie spontanée.

L'obtention d'haploïdes devrait permettre, outre l'amélioration et une connaissance plus approfondie de la génétique des *Canephora*, un emploi plus aisé des techniques de diversification génétique, comme la mutagenèse induite, en vue de la recherche de nouvelles formes utiles (Moh, 1973).

Si l'haploïde de *C. arabica* est connu depuis longtemps (Carvalho, 1952 ; Vishveshwara, 1960 ; Dublin et Parvais, 1975), il n'existait jusqu'à ce jour aucun cas connu d'haploïde chez le *Coffea canephora*.

Matériel et méthodes

Les semences qui ont été utilisées provenaient de différents clones de Robusta, sélectionnés par l'IFCC en Côte d'Ivoire.

Un examen préliminaire de la polyembryonie chez ces caféiers devait montrer que son taux variait d'un clone à un autre à l'intérieur de la même variété, et vraisemblablement d'une année à l'autre, pour le même clone (Dublin, 1973).

Les techniques de germination, de triage des graines polyembryonnées et de récupération des plantules issues de polyembryons ont été les mêmes que celles déjà utilisées pour les recherches d'haploïdes chez *C. arabica*.

Lors des semis de graines polyembryonnées, le plus gros des embryons se développe plus rapidement et soulève la graine à laquelle la racine du second embryon, plus petit, reste suspendue, perdant tout contact avec le sol. Dans les conditions ordinaires de semis en planche, en pépinière, cette racine se dessèche rapidement et meurt.

Par un remplissage progressif du pot de semis au fur et à mesure de la levée de la graine, on parvient sans difficulté à maintenir les racines des deux

embryons en contact permanent avec le sol, jusqu'à épuisement des réserves contenues dans la graine et étalement des feuilles cotylédonaire.

Les plantules jumelles sont ensuite démarquées, transplantées en pot et maintenues dans une atmosphère humide pendant quelques jours de façon à réduire le choc à la transplantation. Des apports réguliers d'azote sous forme d'urée en pulvérisations sur les feuilles améliorent sensiblement la croissance de ces plantules.

En règle générale, la plantule haploïde ($n = 11$) se présente comme une version réduite du type normal. En l'absence de données précises sur le phénotype haploïde, un premier triage a donc été effectué sur la taille, l'aspect général des plantules et un examen rapide de la densité stomatique.

Les plantules ainsi triées ont alors été contrôlées par un comptage des chromosomes sur les extrémités radiculaire, colorées au Feulgen.

Comparativement au *C. arabica*, le taux de polyembryonie chez le *C. canephora* var. *robusta* est nettement moins élevé : $5,8 \cdot 10^{-3}$ contre $25,0 \cdot 10^{-3}$ pour l'Arabica. Par ailleurs, la disproportion qui existe entre les plantules jumelles de *Canephora* d'un même couple est souvent considérable et pose de délicats problèmes de récupération des plantules (Fig. 4).

Parallèlement aux recherches d'haploïdes sur plantules issues de polyembryons, des observations ont été effectuées sur environ vingt mille plantules issues de graines monoembryonnées.

Un triage des plantules a été effectué d'abord sur leur taille, puis sur un « portrait robot » de l'haploïde. Celui-ci a été établi à l'aide d'observations effectuées sur les variations du rapport longueur/largeur des feuilles chez le genre *Coffea* en fonction des niveaux de ploïdie.

Figures ci-contre

1. — *C. canephora*. Plantules haploïdes ($n = 11$)
2. — *C. canephora*. Plantule diploïde ($2n = 22$) entre des plantules haploïdes ($n = 11$)
3. — *C. canephora*. Métaphase de mitose sur feuille diploïde ($2n = 22$)
4. — *C. canephora*. Graine biembryonnée
5. — *C. canephora*. Métaphase de mitose sur feuille haploïde ($n = 11$)

Le contrôle cytologique des plantules présumées haploïdes à la suite de ce premier triage a été effectué sur très jeunes feuilles. Celles-ci, après un prétraitement à l' α -bromonaphtalène, ont été fixées dans du liquide de Carnoy, à chaud (60 °C) pendant 48 h, puis hydrolysées à froid dans de l'acide chlorhydrique 4 N et enfin colorées au Feulgen après un

passage rapide (15 mn) dans de la pectinase à 5 %.

Trois des plantules issues de graines monoembryonnées se sont révélées haploïdes avec onze chromosomes (Fig. 1, 2 et 3, p. 192).

Les trois cents plantules issues de polyembryons se sont toutes révélées diploïdes.

La plantule haploïde ($n = x = 11$) de *Coffea canephora* var. *robusta*

Les trois plantules de *C. robusta* que nous avons ainsi isolées sont à l'heure actuelle âgées de six mois. Elles mesurent respectivement 35, 53 et 93 mm de haut.

Les plantules haploïdes de *Robusta* sont caractérisées par un aspect très chétif. Elles sont grêles, à entrenœuds courts, comparativement aux diploïdes ($2n = 2x = 22$) de même âge et exposés aux mêmes conditions de culture.

Les feuilles des plantules haploïdes sont étroites, légèrement gaufrées et de coloration vert pâle.

Les rapports longueur/largeur des feuilles des haploïdes, sont significativement différents de ceux des feuilles des diploïdes.

Les caractères stomatiques ont été observés sur lambeaux d'épiderme de la face inférieure des feuilles entre lame et lamelle, dans une goutte de solution de nitrate d'argent à 1 % ; les chloroplastes prennent alors une coloration brune et sont aisément dénombrables.

Chez les délicates plantules haploïdes, insuffisamment développées, ces lambeaux d'épiderme sont cassants et difficiles à détacher, aussi les données concernant les caractères stomatiques n'ont-elles pu être établies que partiellement et sur un nombre limité d'observations.

Les caractères : dimensions des cellules de garde, nombre de chloroplastes de ces cellules semblent significativement différents de ceux des diploïdes (tableau I).

TABLEAU I

Caractéristiques foliaires et stomatiques comparées chez le diploïde ($2n = 22$) et l'haploïde ($n = 11$) de *C. canephora*

Caractères		Diploïde $2n = 22$	Haploïde $n = 11$
Feuilles	Longueur moyenne (mm).....	54,8	29,1
	Largeur moyenne (mm).....	19,9	6,3
	Rapport moyen longueur/largeur.....	2,9	4,7
Stomates	Nombre moyen de chloroplastes par cellule de garde....	4,1	2,8
	Longueur moyenne des cellules de garde (μ).....	20,07	16,56

Conclusion

Le procédé employé ici et qui a permis de découvrir les premiers haploïdes connus chez le *C. canephora* var. *robusta* est insuffisant dans le cadre d'un programme d'utilisation de l'haploïdie dans l'amélioration de ces caféiers.

L'obtention de ces premiers haploïdes constitue, malgré tout, un événement important qui ouvre des perspectives nouvelles dans l'étude génétique de ces caféiers.

L'étude de la croissance et du développement de

ces haploïdes, leur transformation en diploïdes homozygotes et l'examen du comportement de ceux-ci apporteront d'utiles renseignements sur les limites et les possibilités de l'emploi de l'haploïdie à des fins pratiques chez le *C. canephora*.

Cette découverte de l'état d'haploïdie chez le

C. canephora présente en outre un intérêt plus général par la contribution qu'elle peut apporter aux recherches sur l'haploïdie chez les végétaux arbustifs, pluriannuels, dont les exemples connus d'haploïdie sont encore très restreints (Winton et Stettler, 1974).

BIBLIOGRAPHIE

- CAPOT (J.), 1972. — L'amélioration du caféier en Côte d'Ivoire, les hybrides « Arabusta ». *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVI, n° 1, p. 3-18.
- CARVALHO (A.), 1952. — Taxonomia de *Coffea arabica* L. XI. Caracteres morfológicos dos haploïdes. *Bragantia*, vol. 12, nos 4-6, p. 202-212.
- CARVALHO (A.), MONACO (L. C.), 1971. — Coffee breeding aiming at resistance to *Hemileia vastatrix*. *Ciência e cultura*, 23, 2, p. 141-146.
- CHINNAPPA (C. C.), 1968. — Interspecific hybrids of *Coffea canephora* and *arabica*. *Current Science*, 37, 23, p. 676-677.
- DUBLIN (P.), 1967. — L'amélioration du caféier Robusta en République Centrafricaine. Dix années de sélection clonale. *Café Cacao Thé*, vol. XI, n° 2, p. 101-138.
- DUBLIN (P.), 1972. — La polyembryonie chez le genre *Coffea*. Rapp. an. IFCC, Côte d'Ivoire, p. 81-83.
- DUBLIN (P.), PARVAIS (J. P.), 1975. — Researches on haploid raised from polyembryos in *C. arabica*. Coll. Sci. int. sur le Café, Hambourg, 9-14/6/1975.
- FORESTIER (J.), BELEY (J.), 1969. — Variabilité de la nutrition minérale et de la production des clones de caféier Robusta. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XIII, n° 4, p. 290-296.
- MAGOON (M. L.), KHANNA (K. K.), 1963. — Haploids. *Caryologia*, vol. 16, n° 1, p. 191-226.
- MOH (C. C.), 1973. — Induced mutations in coffee. In Induced mutations in vegetatively propagated plants. I. A. E. A., Vienne, p. 129-136.
- VISHVESHVARA (S.), 1960. — Occurrence of a haploid in *Coffea arabica* L. cultivar Kents. *Indian Coffee*, vol. 24, n° 3, p. 123-124.
- WINTON (L. L.), STETTLER (R. F.), 1974. — Utilization of haploidy in tree breeding. In Haploids in higher plants. Proc. First Intern. Symp., Univ. Guelph, p. 259-273.
- IFCC, 1963. — Les principes de la sélection des caféiers canéphoroïdes et libéro-excelsoïdes. Bull. IFCC (Paris), n° 5, 48 p.

DUBLIN (P.), PARVAIS (J. P.). — Note sur les premiers haploïdes spontanés découverts chez le *Coffea canephora* var. *robusta*. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XIX, n° 3, juil.-sept. 1975, p. 191-196, tabl., photos, réf.

Les caféiers *Coffea canephora* sont tous diploïdes ($2n = 22$). Des géniteurs homozygotes faciliteraient l'amélioration végétative de cette plante ; c'est pourquoi les auteurs ont recherché des haploïdes chez cette espèce.

Les trois cents plantules issues de graines polyembryonnées étaient toutes diploïdes.

Sur 20.000 plantules issues de graines monoembryonnées, trois étaient haploïdes. Ces plantules sont petites et à entrenœuds plus courts que ceux des plantes diploïdes ; leurs feuilles sont étroites, légèrement gaufrées et de couleur vert pâle.

La transformation de ces haploïdes en diploïdes homozygotes permettra la création d'hybrides génétiquement identiques, à hétérosis maximale et dont la vulgarisation sera facile et peu coûteuse.

DUBLIN (P.), PARVAIS (J. P.). — Note on the first spontaneous haploids found in *Coffea canephora* var. *robusta*. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XIX, n° 3, juil.-sept. 1975, p. 191-196, tabl., photos, réf.

The *Coffea canephora* coffee trees are all diploid ($2n = 22$). Homozygous genitors would facilitate the vegetative improvement of this plant ; it is the reason why the authors have looked for haploids in this species.

The three hundred plantlets obtained from polyembryonic seeds were all diploid.

Out of 20.000 plantlets obtained from monoembryonic seeds, three were haploid. These plantlets are small with internodes shorter as those of the diploid plants ; their leaves are narrow, slightly crinkled and have a light green shade.

The transformation of these haploids into homozygous diploids will allow the creation of genetically identical hybrids with highest heterosis, the extension of which will be easy and cheap.

DUBLIN (P.), PARVAIS (J. P.). — Über die bei dem *Coffea canephora* var. *robusta* entdeckten spontanen ersten Haploiden. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XIX, n° 3, juil.-sept. 1975, p. 191-196, tabl., photos, réf.

Alle *Coffea canephora* Kaffeebäume sind diploid ($2n = 22$). Homozygote Erzeuger würde die vegetative Verbesserung dieser Pflanze erleichtern ; deshalb haben die Autoren bei dieser Arte Haploide gesucht.

Die aus polyembryonen Samen abstammenden drei hundert Pflänzchen waren alle diploid.

Bei aus monoembryonen Samen abstammenden zwanzig tausend Pflänzchen waren drei haploid. Diese Pflänzchen sind klein und mit als diejenigen von diploiden Pflanzen kürzeren Knotenweiten ; ihre Blätter sind eng, leicht gaufriert und bleich grün.

Die Umwandlung von diesen Haploiden in homozygote Diploiden wird die Erfindung von mit höchster Heterosis und genetisch identischen Hybriden erlauben und dessen Gemeinverständlichmachen leicht und wenig kostspielig sein wird.

DUBLIN (P.), PARVAIS (J. P.). — Nota sobre los primeros haploides espontáneos descubiertos en *Coffea canephora* var. *robusta*. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XIX, n° 3, juil.-sept. 1975, p. 191-196, tabl., photos, réf.

Todos los cafetos *Coffea canephora* son diploides ($2n = 22$). Genitores homocigotos facilitarían la mejora vegetativa de esta planta ; por eso los autores han buscado haploides en esta especie.

Las trescientas plántulas de simientes poliembrioadas eran todas diploides.

En los 20.000 plántulas de simientes monoembrioadas, tres eran haploides.

Estas plántulas son pequeñas, con internodios más cortos que los de las plantas diploides. Sus hojas son estrechas, un poco rizadas y de color verde claro.

La transformación de estos haploides en diploides homocigotos permitirá la creación de híbridos genéticamente idénticos con una heterosis máxima, la vulgarización de los cuales será fácil y poco costosa.