

Evidence d'une recombinaison génomique entre deux espèces de caféiers génétiquement éloignées : *Coffea pseudozanguebariae* Bridson et *C. liberica* var *dewevrei* De Wild et Th Dur

Doffou S. AKAFFOU*¹, Jacques LOUARN², Irié A. ZORO Bi¹, Raoul S. Sié¹, Serge HAMON², Hyacinthe LEGNATÉ³, Jules KÉLI³ & Fanja MONDEIL⁴.

¹Université d'Abobo-Adjamé Côte d'Ivoire, 02 BP 801 Abidjan 02.

²Institut de Recherche pour le Développement, BP 64501 Montpellier cedex5, France

³Centre National de Recherche Agronomique, 01 BP 1740 Abidjan 01

⁴Université de Cocody Côte d'Ivoire, 08 BP 172 Abidjan 08

*Auteur pour les correspondances (E-mail: sakaffou@yahoo.fr)

Reçu le 18-01-2010, accepté le 02-02-2010.

Résumé

La recombinaison génomique entre deux espèces de caféiers génétiquement éloignées est étudiée dans le croisement interspécifique *Coffea pseudozanguebariae* x *C. liberica* var. *dewevrei*. A cet effet, des caractères morphologiques, la durée de la fructification, la teneur en caféine et la teneur en hétéroside sont évaluées chez les espèces parentales, les hybrides F1 et les descendants des backcross de première génération (BC1).

Les espèces parentales ont des caractères très contrastés : les feuilles, les fruits et les graines sont de très petites tailles, et 1 à 8 fleurs s'observent par nœud chez l'espèce *C. pseudozanguebariae*. Cependant chez *C. liberica* var. *dewevrei* les dimensions sont deux fois plus importantes et le nombre de fleurs par nœud oscille entre 37 et 103. La fructification dure en moyenne 67 jours chez *C. pseudozanguebariae* contre 309 jours *C. liberica* var. *dewevrei*. Les graines de *C. pseudozanguebariae* sont dépourvues de caféine mais contiennent en retour une forte teneur en hétéroside. Au contraire chez *C. liberica* var. *dewevrei* les graines renferment de la caféine mais sont dépourvues d'hétéroside.

Les plantes F1 se distinguent nettement des espèces parentales : leurs caractères morphologiques et la durée de fructification sont intermédiaires entre ceux des parents. Leurs graines contiennent à la fois de la caféine et de l'hétéroside contrairement aux parents. Chez les descendants des backcross de première génération, la diversité est considérable pour tous les caractères observés et forme un continuum entre les deux espèces. Parmi les plantes BC1, certaines ont une durée moyenne de fructification (180 jours) mais elles sont dépourvues de caféine ou d'hétéroside, contrairement aux F1 et aux espèces parentales. Leur présence démontre la survenue de recombinaisons inter et intra chromosomiques entre les génomes des deux espèces.

Cette recombinaison laisse entrevoir l'opportunité et la possibilité de l'utilisation des ressources génétiques des caféiers pour l'amélioration des espèces cultivées.

Mots clés : *Coffea pseudozanguebariae*, *Coffea liberica* var. *dewevrei*, ressource génétique, caféine, hétéroside, durée de fructification, recombinaison génomique.

Summary

Evidence of genomic recombination between two genetically distant coffee species: Coffea pseudozanguebariae Bridson and *C. liberica* var *dewevrei* De Wild and Th Dur.

Genomic recombination between two genetically distant coffee species was studied in an interspecific cross *Coffea pseudozanguebariae* x *C. liberica* var. *dewevrei*. Morphological traits, fructification duration, caffeine and heteroside content were evaluated in parental species, F1 hybrids and first backcross offspring (BC1).

The parental species had very contrasting traits: leaves, fruits and seeds were small-sized and 1 to 8 flowers were observed per axil in *C. pseudozanguebariae*. Whereas in *C. liberica* var. *dewevrei*, the sizes were twice times as important and the number of flowers per axil fluctuated between 37 and 103. The fructification length lasted 67 days an average in *C. pseudozanguebariae* against 309 days in *C. liberica* var. *dewevrei*. The seeds in *C. pseudozanguebariae* were caffeine-free but contained high level of heteroside. By contrast in *C. liberica* var. *dewevrei* the seeds contained caffeine but were heteroside-free.

F1 plants were clearly distinguished from parental species : morphological traits and fructification duration were intermediate between the two parents. The F1 contained at the same time caffeine and heteroside in their seeds unlike the parental species. In the first backcross generation of offspring the diversity was considerable for all traits and formed a continuum between the two species. Some BC1 had a medium-length fructification (180 days) but were caffeine or heteroside-free contrary to the F1 and the parental species. Their presence demonstrated that inter and intrachromosomal recombinations took place between the genome of these two species.

Such recombination showed the opportunity and the possibility of using coffee genetic resources to improve cultivated species.

Key words: *Coffea pseudozanguebariae*, *Coffea liberica* var. *dewevrei*, genetic resource, caffeine, heteroside, fructification length, genomic recombination.

1. Introduction

Le transfert de gènes des espèces sauvages vers celles cultivées, par hybridation interspécifique suivie de rétrocroisements successifs, reste encore une approche largement utilisée pour l'amélioration génétique des plantes de grande culture (Tanksley & Nelson, 1996 ; Pistorius, 1997 ; Bernarcci *et al.*, 1998 ; Buerstmayr *et al.*, 1999 ; Zamir, 2001 ; Robin *et al.*, 2003). Chez les caféiers, cette approche est d'autant plus importante que le genre *Coffea* renferme un stock de variabilité génétique considérable, plus de 8000 génotypes repartis dans plus de 20 espèces (Anthony, 1992).

Les premiers travaux d'hybridation interspécifique et de transfert de caractères chez le caféier ont révélé des difficultés liées au faible taux d'obtention des hybrides et à leur stérilité partielle (Charrier, 1978 ; Lanaud, 1979 ; Louarn, 1992). Toutefois, la fertilité résiduelle des hybrides permet de produire des plantes aux générations suivantes.

En fait, les ressources génétiques des caféiers sont organisées en trois compartiments corrélés à leur localisation géographique (Charrier 1978 ; Louarn, 1992 ; Anthony *et al.* 1989 ; Rakotomalala, 1992 ; Cros, 1994 ; Lashermes *et al.* 1997). Le premier compartiment renferme les espèces de l'Ouest et du Centre de l'Afrique, le second, les espèces de l'Est de l'Afrique et le troisième, les espèces Malgaches. Les espèces cultivées proviennent de l'Afrique de l'Ouest et du Centre (*C. canephora*, et *C. liberica* var *dewevrei*) et de l'Afrique de l'Est (*C. arabica*).

Les espèces appartenant à des compartiments différents sont génétiquement distantes et présentent des caractères contrastés (Dussert, 1993 ; Baranski, 1997). En effet, les espèces de l'Afrique de l'Ouest et du Centre ont une longue durée de fructification (plus de 10 mois), des fruits rouges à maturité, de grosses graines (10 à 20 g pour 100 graines) et une teneur en caféine de 1,5 à 3 % MS en moyenne. Par contre, les espèces de l'Afrique de l'Est sont caractérisées par une courte durée de fructification (1 à 3 mois), des fruits sont violet à maturité, avec de petites graines (2 à 3 g pour 100 graines) généralement dépourvues de caféine.

Ces caractères intéressants (absence de caféine, courte durée de fructification etc.) que présentent les espèces Est Africaines en font de potentiel donneurs pour améliorer les espèces *C. canephora* ou *C. liberica* var *dewevrei*. Entre

autres bénéfiques, la réduction de la durée de fructification des espèces cultivées, pourraient particulièrement aider les paysans Ivoiriens à faire face, à temps, aux frais de scolarisation de leurs enfants.

Toutefois, des barrières d'incompatibilité existent entre les caféiers Ouest et Est Africains, et provoquent chez les hybrides des taux de mortalité élevés, ou une stérilité plus ou moins complète (Louarn, 1992 ; Akaffou, 1999). Ces difficultés seraient liées à des dysfonctionnements géniques du fait de l'éloignement génétique des génomes parentaux (Charrier, 1978 ; Lanaud, 1979 ; Louarn, 1992). Il apparaît par conséquent important, pour le transfert de gènes, d'étudier les possibilités de recombinaison entre les génomes parentaux ; cette recombinaison étant le préalable au transfert de gènes.

Afin d'analyser une telle recombinaison, un croisement modèle impliquant deux espèces génétiquement éloignées, *C. pseudozanguebariae*, une espèce sauvage d'Afrique de l'Est et *C. liberica* var *dewevrei*, une espèce cultivée d'Afrique du Centre, est analysé. Nous présentons dans cet article la variabilité phénotypique et biochimique des hybrides F1 et BC1. L'opportunité d'utilisation des espèces sauvages dans les programmes d'amélioration des espèces cultivées sera discutée.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est composé des espèces parentales *C. pseudozanguebariae* (PSE) et *C. liberica* var *dewevrei* (DEW), des hybrides F1 et des descendants backcross de première génération (BC1). Ce matériel est implanté séparément dans quatre blocs à la station d'amélioration génétique des caféiers de Man (Côte d'Ivoire). La densité de plantation est de 2,5 m x 1,25 m, soit 3200 plants/ha. Les espèces parentales, les hybrides F1 et BC1 sont diploïdes et allogames.

PSE est une espèce sauvage originaire du Kenya et de la Tanzanie (Berthaud *et al.* 1980 ; Hamon *et al.* 1984). Ces plantes ont été introduites en Côte d'Ivoire à partir du Kenya ; elles étaient âgées de plus de 15 ans au moment des études. Les évaluations ont porté sur 12 à 30 génotypes selon les paramètres.

DEW est endémique de la Centrafrique (Dublin, 1962, 1963; Berthaud & Guillaumet 1978). Vingt à 60 génotypes introduits en Côte d'Ivoire par Berthaud and Guillaumet (1978) ont été étudiés.

Les hybrides F1, au nombre de 30, sont issus du croisement entre le génotype PSE 08044 et le génotype DEW 05851 (PSE 08044 x DEW 05851). Seuls les croisements impliquant PSE comme parent femelle permettent d'obtenir des hybrides (Louarn, 1992).

Les descendants backcross se composent de 20 plantes F1 x PSE et de 65 plantes F1 x DEW. Ces plantes proviennent de la pollinisation des F1 par un bulk de pollen de chaque espèce.

2.2. Paramètres évalués

Les paramètres évalués concernent la morphologie, la phénologie de la fructification et les composés biochimiques.

La morphologie des plantes est décrite au travers des dimensions foliaires (longueur et largeur), du nombre de fleurs par nœud, du nombre de pétales par fleurs, des dimensions des fruits et des graines (longueur, largeur et épaisseur) et du poids de 100 graines. Dix feuilles, 10 nœuds florifères, 10 fruits et 10 graines sont observés par génotype. Ces organes sont prélevés de manière aléatoire sur toute la plante. Le nombre de pétales est estimé à partir de 50 fleurs.

Les données sur la fructification ont été obtenues par Akaffou *et al.* (2003). Elles portent sur la durée de la nouaison, la durée de la maturation de l'albumen, la durée de la maturation des fruits et la durée totale de la fructification, cette dernière correspond à la durée entre la floraison et le murissement de 50 % des fruits.

Enfin, la caféine et l'hétéroside diterpénique sont deux composés importants des grains de café. La caféine est connue pour son effet stimulant, alors que l'hétéroside diterpénique serait responsable de l'amertume du café-boisson (Prewo *et al.*, 1990 ; Rakotomalala, 1992).

Les teneurs de ces deux composés (caféine et hétéroside) ont été mesurées par Barre *et al.* (1998).

Les paramètres phénologiques et biochimiques ont été évalués sur trois années consécutives, et aucun effet année n'a été mis en évidence (Barre *et al.*, 1998, akaffou, 1999)

2.3. Analyse statistique des données

L'analyse de la variance à un critère de classification a été utilisée pour tester l'effet génotype et sa contribution dans la variabilité, chez les espèces parentales, les hybrides F1 et les BC1. La contribution génotypique (CR_G) est estimée comme suit : $CR_G = s_G^2 / (s_G^2 + s^2)$ où s_G^2 = variance génotypique et s^2 = variance résiduelle. La variance génotypique (s_G^2) est calculée comme suit : $s_G^2 = (MS_G - MS_R)/n$ où MS_G est le carré moyen génotypique, MS_R le carré moyen résiduel et n , le nombre d'observations par génotype.

La comparaison de la morphologie, de la phénologie et des composés biochimiques entre les espèces parentales, les hybrides F1 et les hybrides BC1 a été effectuée au moyen de l'analyse factorielle discriminante.

Enfin, les interrelations entre la durée de fructification, la teneur en caféine et la teneur en hétéroside, trois caractères monogéniques, ont été étudiées. Leur liaison ou indépendance est testée par le Chi-2. Le gène majeur de la durée de fructification a deux allèles codominants (les durées sont additives), dont l'un *F1-P*, provient de PSE et l'autre *F1-D*, provient de DEW (Akaffou *et al.*, 2003). S'agissant de la caféine, la présence (C) domine l'absence (c) et la teneur n'est pas additive, alors que chez l'hétéroside, les teneurs sont additives et les deux allèles sont codominants avec *h1*, provenant de PSE et *h2* de DEW (Barre *et al.*, 1998).

Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel STATISTICA, version 7.1 (2005).

3. Résultats

3.1. Espèces parentales

Les évaluations morphologiques ont montré chez PSE que les feuilles, les fruits et les graines sont de petites tailles. Les feuilles mesurent en moyenne $99 \pm 7,6$ mm de long sur $40 \pm 5,1$ mm de large ; les dimensions moyennes des fruits sont de $9,6 \times 7,8 \times 7,0$ mm en longueur, largeur et épaisseur, contre $6,7 \times 4,2 \times 2,4$ mm pour les graines (Table 1). Chez DEW les dimensions des feuilles, des fruits et des graines, sont au moins deux fois plus grandes que celles observées chez PSE.

Les rameaux florifères de PSE portent 3 à 8 fleurs par nœud. Ces fleurs portent chacune 7 ou 8 pétales. A l'opposé chez DEW la quantité de fleurs varie de 37 à 103 et chaque fleur a 5 pétales (Table 1).

La variabilité morphologique à l'intérieur de chaque espèce est importante, notamment chez DEW. La contribution génotypique à cette variabilité est généralement supérieur 70 %, excepté les paramètres foliaires et floraux.

L'analyse factorielle discriminante, relative aux variables morphologiques, révèle que ces deux espèces ne peuvent pas se confondre malgré l'importance de la variabilité intra-spécifique. Tous les paramètres morphologiques analysés discriminent clairement les deux espèces (Fig. 1A).

Néanmoins, les tailles des fruits et des feuilles sont les principales variables discriminantes.

Les variables phénologiques discriminent également les deux espèces (Fig. 1). La fructification, de la floraison à la récolte, dure en moyenne 67 ± 4 jours chez PSE contre 309 ± 22 jours chez DEW. La variation entre plante est de 63 à 77 jours chez PSE et de 268 à 350 jours chez DEW.

S'agissant des composées biochimiques, les graines de PSE sont dépourvues de caféine mais contiennent l'hétéroside. La teneur de ce dernier composé est fixée arbitrairement à 1. Chez DEW, les graines renferment de la caféine, en moyenne $0,94 \pm 0,17$ % MS, mais sont dépourvues d'hétéroside.

Table 1. Moyennes et variations (entre parenthèses) des caractères étudiés chez les espèces *C. pseudozanguebariae* (PSE) et *C. liberica* var. *Dewevrei* (DEW), les hybrides F1 et les backcross F1 x PSE et F1 x DEW

Caractères évalués	Plantes				
	PSE	F1 x PSE	F1	F1 x DEW	DEW
Longueur de la feuille (mm)	99 (83 – 106)	102 (72 – 135)	158 (108 – 196)	172 (115 – 232)	235 (177 – 312)
Largeur de la feuille (mm)	40 (30 – 50)	39 (25 – 56)	64 (50 – 80)	67 (45 – 97)	96 (76 – 136)
Nombre de fleur par nœud	4,5 (2,7 – 8,2)	4,5 (1,9 – 15,0)	21,1 (10,0 – 36,0)	19,9 (6,5 – 46,0)	61,0 (37,0 – 103,0)
Nombre de pétale par fleur	6,4 (5,9 – 7,1)	6,4 (5,0 – 7,2)	6,0 (5,0 – 7,0)	5,5 (5,0 – 6,7)	5,1 (4,9 – 5,8)
Longueur du fruit (mm)	9,6 (8,0 – 11,2)	11,5 (9,0 – 17,0)	12,5 (10,0 – 17,0)	13,7 (11,0 – 20,0)	16,8 (15,0 – 20,3)
Largeur du fruit (mm)	7,8 (6,8 – 8,8)	8,7 (8,0 – 10,0)	9,0 (8,0 – 11,0)	10,6 (8,0 – 13,0)	14,9 (13,0 – 17,0)
Épaisseur du fruit (mm)	7,0 (6,0 – 8,0)	7,8 (7,0 – 9,0)	8,3 (7,0 – 9,0)	9,6 (8,0 – 12,0)	12,6 (11,0 – 15,0)
Longueur de la graine (mm)	6,7 (5,5 – 8,6)	8,6 (6,0 – 13,0)	9,5 (8,0 – 13,0)	10,3 (8,0 – 12,0)	12,3 (10,2 – 16,0)
Largeur de la graine (mm)	4,2 (3,7 – 4,6)	5,1 (4,0 – 6,0)	5,7 (5,0 – 7,0)	6,7 (5,0 – 8,0)	8,6 (6,8 – 10,0)
Épaisseur de la graine (mm)	2,4 (2,2 – 2,8)	3,4 (3,0 – 5,0)	4,2 (3,0 – 5,0)	4,5 (4,0 – 6,0)	5,2 (4,2 – 6,4)
Durée de la fructification (jours)	67 (63 – 77)	133 (93 – 198)	180 (157 – 191)	262 (191 – 324)	309 (268 – 350)
Teneur en caféine (% MS)	0	0,03 (0 – 0,20)	0,18 (0,10 – 0,28)	0,55 (0,21 – 1,22)	0,94 (0,70 – 1,10)
Teneur en hétéroside	1	0,84 (0,40 – 1,60)	0,56 (0,38 – 0,80)	0,08 (0 – 0,41)	0

3.2. Hybrides F1

Les paramètres morphologiques des plantes F1 sont intermédiaires entre ceux des parents. Les feuilles mesurent en moyenne 158 ± 14 mm de long sur 64 ± 5 mm de large. Les dimensions moyennes des fruits et des graines sont de $12,5 \times 9,0 \times 8,3$ mm et de $9,5 \times 5,7 \times 4,2$ mm respectivement (Table 1). Quant à la quantité de fleurs par nœud, elle oscille entre 10 et 36 (21 fleurs en moyenne). Chaque fleur porte 5 à 7 pétales.

La durée de la fructification est également

intermédiaire entre les deux espèces. Selon les plantes, la fructification demande 157 à 191 jours.

Chez les F1, les graines renferment à la fois de la caféine et de l'hétéroside. Les teneurs moyennes enregistrées sont de $0,18 \pm 0,04$ % MS pour la caféine et de $0,56 \pm 0,12$ pour l'hétéroside (Table 1).

Pour tous ces paramètres (morphologiques, phénologiques et biochimiques), les F1 se distinguent des espèces parentales sans risque d'erreur (Fig. 1A et Fig. 1B).

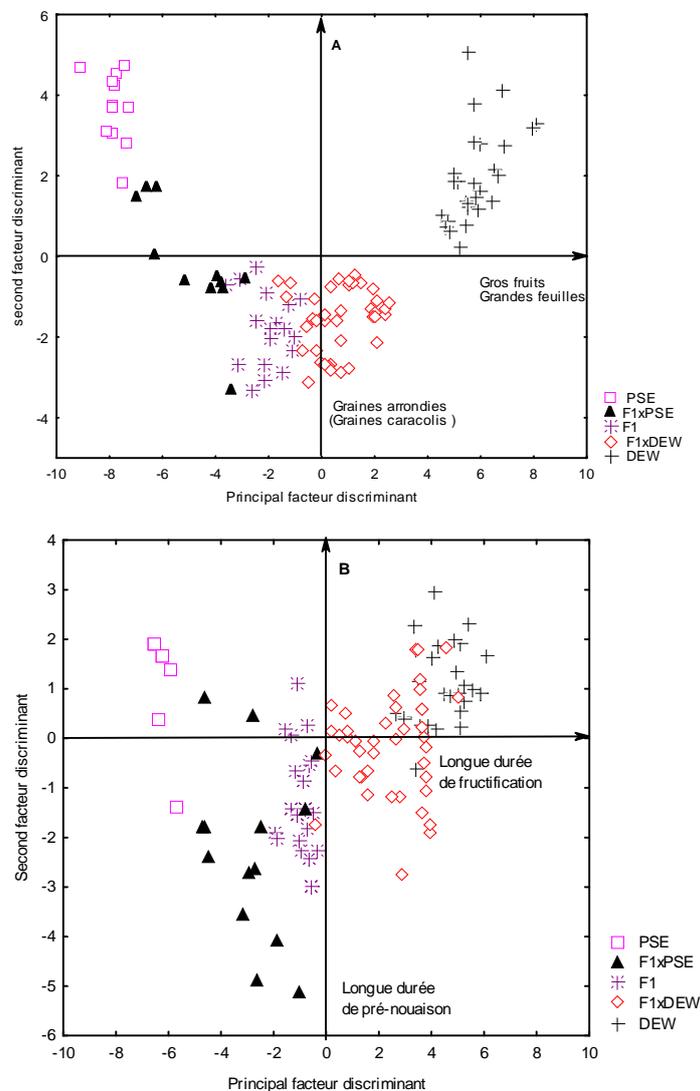


Figure 1. Analyse factorielle discriminante relative à la morphologie (A) et à la phénologie de la fructification (B).

3.3. Descendants BC1

Chez les descendants BC1 (F1 x PSE et F1 x DEW), la variabilité entre plantes est très importante. En effet, pour tous les caractères étudiés les variations vont du type F1 à l'espèce parentale (Fig. 1A et Fig. 1B). L'effet génotypique dans ces variations est généralement supérieur à 50 %.

En considérant les caractères deux à deux, le tableau 2 montre que le gène majeur de la durée de la fructification (courte vs longue durée de fructification) et celui de la présence vs absence

de caféine seraient indépendants : il y a autant de parentaux (8) que de recombinaisons (6) de recombinaisons ($c^2_{obs} = 0,28 < c^2_{0,95}$, ddl = 1). La projection du nuage de points portant sur la relation entre la durée de la fructification et la teneur en caféine, fait apparaître des plantes particulières (Fig. 2A). Il s'agit notamment des génotypes L13 9/8 et L13 14/3 parmi les plantes F1 x PSE. Ces plantes ont une durée moyenne de fructification (184 et 164 jours) de type F1 ; cependant, elles sont dépourvues de caféine (type PSE).

Table 2. Etude de la ségrégation des caractères Courte vs Longue durée de fructification (Ft1-P/Ft1-D) et Présence vs Absence de caféine (C/c) chez les hybrides F1 x PSE.

Gamètes F1	Gamètes PSE		Phénotypes des plantes	Effectifs
	Ft1-P c	Ft1-P c		
Ft1-P c	Ft1-P Ft1-P cc		Courte durée de fructification, absence de caféine	4
Ft1-P C	Ft1-P Ft1-P Cc		Courte durée de fructification, présence de caféine	1
Ft1-D c	Ft1-D Ft1-P cc		Moyenne durée de fructification, absence de caféine	5
Ft1-D C	Ft1-D Ft1-P Cc		Moyenne durée de fructification, présence de caféine	4

S'agissant de la relation entre la durée de la fructification et la teneur en hétéroside, les deux gènes majeurs apparaissent indépendants (Table.3) : parmi le 18 plantes F1 x DEW, a durée moyenne de fructification (191 à 260 jours), 10 sont dépourvues d'hétéroside et 8 en contiennent ; parmi les 25 autres à longue durée de fructification (260 à 324 jours), 14 sont dépourvues d'hétéroside

et 11 en contiennent. Ainsi, il y a autant de parentaux (22) que de recombinaisons (21). La projection du nuage de points montre une plante particulière, L13 1/3, parmi les descendants F1 x DEW (Fig. 2B). Elle a une durée moyenne de fructification similaire à celle des individus F1 (191 jours), toutefois, ses graines ne contiennent pas d'hétéroside comme le type DEW.

Table 3. Etude de la ségrégation des caractères Courte vs Longue durée de fructification (Ft1-P/Ft1-D) et Présence vs Absence d'hétéroside (h1/h2) chez les hybrides F1 x DEW.

Gamètes F1	Gamète DEW		Phénotypes des plantes	Effectifs
	Ft1-D h2	Ft1-D h2		
Ft1-P h1	Ft1-P Ft1-D h1h2		Moyenne durée de fructification, moyenne teneur d'hétéroside	8
Ft1-P h2	Ft1-P Ft1-D h2h2		Moyenne durée de fructification, absence d'hétéroside	10
Ft1-D h1	Ft1-D Ft1-D h1h2		Longue durée de fructification, moyenne teneur d'hétéroside	14
Ft1-D h2	Ft1-D Ft1-D h2h2		Longue durée de fructification, absence d'hétéroside	11

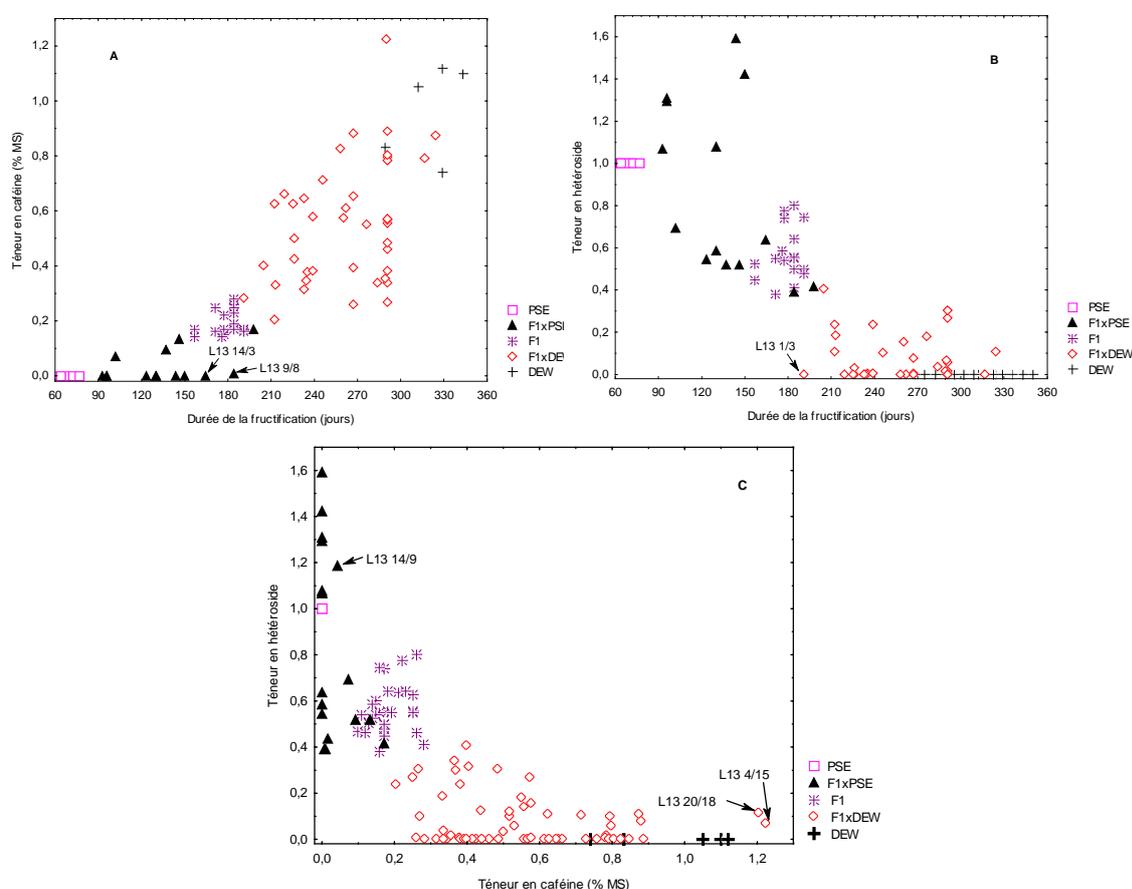
Enfin, la relation entre la teneur en caféine et la teneur en hétéroside semble indiquer que les deux gènes majeurs sont liés (Table. 4) : il y a plus de types parentaux (14) que de types recombinaisons (4), ($c^2_{obs} = 5,60 > c^2_{0,95}$, ddl = 1). La distance génétique les séparant serait de 22 cM. Les génotypes L13 14/9 (parmi les hybrides F1 x PSE) et, L13 4/15 et L13 20/18 (parmi les plantes F1x DEW) se démarquent des autres (Fig. 2C). En effet, les graines de la plante L13

14/9 qui ont une forte teneur en hétéroside (type PSE), contiennent de la caféine de type F1. De même les plantes L13 4/15 et L13 20/18 qui ont de la caféine de type DEW, contiennent de l'hétéroside de type F1. La présence de ces différentes plantes suggère un brassage inter et intra chromosomique entre les génomes parentaux.

Signalons que des plantes dépourvues, à la fois de caféine et d'hétéroside n'ont pas été obtenues.

Table 4. Etude de la ségrégation des caractères Présence vs Absence de caféine (C/c) et Présence vs Absence d'hétéroside (h1/h2) chez les hybrides F1 x PSE.

Gamètes F1	Gamète PSE		Phénotypes des plantes	Effectifs
	c h1	h1 h2		
c h1	cc	h1h1	Absence de caféine, forte teneur d'hétéroside	7
c h2	cc	h1h2	Absence de caféine, moyenne teneur d'hétéroside	3
C h1	Cc	h1h1	Présence de caféine, forte teneur d'hétéroside	1
C h2	Cc	h1h2	Présence de caféine, moyenne teneur d'hétéroside	7

**Figure 2.** Les interrelations entre la durée de fructification et la teneur en caféine (A) ; entre la durée de fructification et la teneur en hétéroside (B) et entre la teneur en caféine et la teneur en hétéroside (C).

4. Discussion

Les données morphologiques ont montré que PSE et DEW ont des caractères très contrastés. Ces différences s'observent également au

niveau de la phénologie de la fructification et des paramètres biochimiques. Ainsi, ces deux espèces ne prêtent à aucune confusion.

Cette différenciation devrait principalement être d'origine génétique : les fortes différences

mentionnées par Ky *et al.* (1999, 2000) au niveau des teneurs en sucrose et en acides chlorogéniques, et par Barre (1997) concernant la quantité d'ADN nucléaire ainsi que les données d'hybridation génomique *in situ* (Layssac, 1996), qui indiquent que les chromosomes de PSE se distinguent clairement de ceux de DEW, tendent à conforter cette hypothèse.

Les hybrides BC1 constituent une population en ségrégation. Dans ces backcross, la variabilité des descendants reflète davantage la diversité des gamètes produits par les géniteurs F1. Les recouvrements de variation entre les BC1 et les F1 d'une part et entre BC1 et espèces parentales d'autre part, atteste de la diversité des gamètes produits par les F1. La contribution de l'effet génotypique dans les variations est importante, indiquant par conséquent la prédominance de l'effet génétique.

Une telle diversité des gamètes serait le résultat des recombinaisons inter et/ou intra-chromosomique entre les génomes parentaux. En effet, lorsque nous considérons les relations entre la durée de fructification, la teneur en caféine et la teneur en hétéroside, caractères sous contrôle monogénique (Barre *et al.* 1998, Akaffou *et al.* 2003), cette recombinaison est illustrée par les plantes à durée moyenne de fructification et à graines dépourvues de caféine ou d'hétéroside. En fait, les plantes PSE, DEW et F1 pourraient être génotypés comme suit : PSE, *Ft1-P Ft1-P cc h1h1*, courte durée de fructification, dépourvue de caféine et pourvue d'hétéroside à forte teneur ; DEW, *Ft1-D Ft1-D CC h2h2*, longue durée de fructification, pourvue de caféine et dépourvue d'hétéroside ; F1, *Ft1-P Ft1-D Cc h1h2*, durée moyenne de fructification, pourvue de caféine et d'hétéroside. Les plantes à durée moyenne de fructification mais dépourvues de caféine, parmi les backcross F1xPSE, seraient de génotype *Ft1-P Ft1-D cc*. Dans ce cas, le gamète produit par la F1 est *Ft1-D c* ; il s'agit donc d'un gamète recombiné. De même, chez la plante L13 1/3 (issu du backcross F1xDEW), à durée moyenne de fructification et à graines dépourvue d'hétéroside (*Ft1-P Ft1-D h2h2*), la F1 a produit un gamète recombiné de type *Ft1-P h2*. Ces gamètes proviendraient de recombinaisons inter chromosomique.

Enfin, dans la relation entre la caféine et l'hétéroside, la recombinaison intra chromosomique est révélée par la plante L13 14/9,

pourvue de caféine de type F1, mais contenant une forte teneur en hétéroside. Cette plante serait de génotype *Cc h1h1* ; le gamète F1 recombiné serait *C h1*. De même, les plantes L13 4/15 et 20/8 (de génotype *CC h1h2*, parmi les F1xDEW) proviennent aussi de recombinaison intra chromosomique, le gamète recombiné ici également serait *C h1*.

Parmi les BC1, nous n'avons pas obtenu de plantes, à la fois dépourvues de caféine et d'hétéroside ; ceci semble normal car les croisements effectués impliquent une F1 double hétérozygote (*Cc h1h2*) et des parents double homozygotes : *cc h1h1* (PSE) et *CC h2h2* (DEW).

Les recombinaisons entre ces trois caractères monogéniques, laisse penser que des recombinaisons seraient possible entre de nombreux autres caractères. Cette hypothèse est appuyée par les analyses des marqueurs RFLP qui révèlent que la répartition des chromosomes lors de la méiose chez les F1 serait aléatoire (Barre, 1997).

Les résultats relatifs à la recombinaison inter et intra-chromosome sont véritablement prometteurs pour l'amélioration du caféier. Toutefois, ils devraient être confirmés sur un effectif plus élevé de plantes (une centaine par backcross).

Cette étude montre que malgré la différenciation génétique entre PSE et DEW, leurs chromosomes ont suffisamment d'homologies permettant les appariements et des enjambements.

Les recombinaisons observées entre ces deux espèces génétiquement éloignées est un résultat capital ; elles laissent espérer la possibilité d'exploitation des caractères d'intérêts (absence de caféine, courte durée de fructification, grosseur des graines, auto-fertilité, résistance à la sécheresse) pour l'amélioration des espèces cultivées.

Toutefois, l'apport de marqueurs moléculaires de type microsatellite s'avère nécessaire pour mieux évaluer l'ampleur et la prédominance des recombinaisons inter et intra-chromosomique. Par ailleurs, l'hybridation génomique *in-situ* serait d'un grand apport, elle permettra de visualiser les zones impliquées dans les recombinaisons intra chromosomique comme Chen et Armstrong (1994) l'ont montré chez l'avoine.

Références citées

- Akaffou D.S., 1999. Recherche des possibilités d'amélioration des caféiers cultivés par transfert de gènes des caféiers sauvages : étude des hybrides interspécifiques entre *coffea pseudozanguebariae* Bridson et *C. liberica* var. *dewevrei* De Wild et Th. Dur. Thèse de doctorat 3^e cycle, Université de Cocody, Côte d'Ivoire. 195 pp.
- Akaffou D.S., Ky C.L., Barre P., Hamon S., Louam J. & Noirot M., 2003. Identification and mapping of a major gene (Ft1) involved in fructification time in the interspecific cross *Coffea pseudozanguebariae* x *C. liberica* var. *Dewevrei* : impact on caffeine content and seed weight. *Theor. Appl. Genet.* **106**:1486-1490.
- Anthony F., 1992. Les ressources génétiques des caféiers : collecte, gestion d'un conservatoire et évaluation de la diversité génétique. Collection Travaux et documents microfichés ; ORSTOM Ed. N° 81 ; 320 pp.
- Anthony F., Clifford M.N. & Noirot M., 1989. La diversité biochimique dans les genres *Coffea* et *Psilanthus*. 13^{ème} colloque de l'ASIC, Paipa, Colombie. pp. 474-484.
- Baranski O., 1997. Participation à l'évaluation des ressources génétiques caféières : étude des caractères morphologiques, phénologiques et de la fertilité de 29 taxons de caféiers sauvages africains, situation des taxons indéterminés originaires du Cameroun et du Congo par rapport aux espèces décrites. Rapport de service national en coopération, du 18 novembre 1995 au 31 janvier 1997 à l'IRD, Man Côte d'Ivoire. 48 pp.
- Barre P., 1997. Les transferts de gènes entre espèces de caféiers diploïdes : étude des hybrides F1 et BC1 entre *Coffea pseudozanguebariae* Bridson x *C. liberica* Bull ex Hiern (*C. Dewevrei* de Wild et Th. Dur). Thèse, Ecole Nationale d'Agronomie de Montpellier, France. 117 pp.
- Barre P., Akaffou D.S., Louam J., Charrier A., Hamon S. & Noirot M., 1998. Inheritance of caffeine and heteroside contents in an interspecific cross between a cultivated coffee species *Coffea liberica* var. *Dewevrei* and a wild species *C. pseudozanguebariae*. *Theor. Appl. Genet.* **96**:306-311.
- Bernacchi D., Beck-Bunn T., Emmatty D., Eshed Y., Inai S., Lopez J., Petiard V., Sayama H., Uhlig J., Zamir D. & Tanksley S., 1998. Advanced back-cross QTL analysis of tomato. II. Evaluation of near-isogenic lines carrying single-donor introgressions for desirable wild QTL-alleles derived from *Lycopersicon hirsutum* and *L. pimpinellifolium*. *Theor. Appl. Genet.* **97** (1-2): 170-180.
- Berthaud J., Guillaumet J.L., Le Pierres D. & Lourd M., 1980. Les caféiers sauvages du Kenya : prospection et mise en culture. *Café-Cacao-Thé XXIV* (2): 101-112.
- Berthaud J. & Guillaumet J.L., 1978. Les caféiers sauvages en Centrafrique. Résultats d'une mission de prospection (jan -fév. 1975). *Café-Cacao-Thé XXII* (3):171-186.
- Buerstmayr H., Lemmens M., Fedak G. & Ruckenbauer P., 1999. Back-cross reciprocal monosomic analysis of Fusarium head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* **98** (1): 76-85.
- Charrier A., 1978. La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea*). Leurs relations avec les caféiers d'origine Africaine (*Eucoffea*). Mémoire ORSTM (Paris) N° 87. 223pp.
- Chen Q. & Armstrong K., 1994. Genomic in situ hybridization in *avena sativa*. *Genome* (37) : 607-612 ;
- Cros J. 1994- Implications phylogénétiques des variations de l'ADN chloroplastique chez les caféiers. Thèse de doctorat, Université Sciences et Techniques de Montpellier II, France. 127 pp.
- Dussert S., 1993. Contribution à la gestion et à l'évaluation des ressources génétiques caféières. Rapport de service national en coopération en Côte d'Ivoire. Laboratoire des Ressources Génétiques et d'Amélioration des Plantes Tropicales, IRD, Montpellier, France. 46 pp.
- Hamon S., Anthony F. & Le pierrès D., 1984. La variabilité génétique des caféiers spontanés de la section *Mozambicoffea* Chev. A. 1) Précisions sur deux espèces affines : *Coffea pseudozanguebariae* Bridson et *C. sp.* A Bridson. *Bull. Mus. Natl., Section B Adansonia* (2): 207-223.

- Ky C.L., Doubeau S., Guyot B., Akaffou S., Charrier A., Hamon S., Louarn J & Noirot M., 1999. Inheritance of coffee bean sucrose content in the interspecific cross: *Coffea pseudozanguebariae* x *Coffea liberica* 'dewevrei'. *Plant Breed.* **119**:165-168.
- Ky C.L., Barre P., Lorieux M., Trouslot P. Akaffou S., Louarn J., Charrier A. Hamon S. & Noirot M., 2000. Interspecific genetic linkage map segregation distortion and genetic conversion in coffee (*Coffea* sp.). *Theor. Appl. Genet.* **101**: 669-676.
- Lanaud C., 1979. Etude des problèmes posés chez le caféier par l'introgression de caractères d'une espèce sauvage (*Coffea Kianjavatensis* : *Mascarocoffea*) dans l'espèce cultivée *C. canephora* (*Eucoffea*). *Café-Cacao-Thé XXIII* (1): 3-28.
- Layssac M., 1996. Etude du croisement *Coffea pseudozanguebariae* x *C. liberica* var. *Dewevrei* : hybridation in situ sur les espèces parentales et les hybrides F1, G2. Rapport de stage D.E.S.S. Laboratoire des ressources génétiques et d'amélioration des plantes tropicales, IRD Montpellier, France. 27 pp.
- Lashermes P., Combes M.C., Trouslot P. & Charrier A., 1997. Phylogenetic relationship of coffee-tree species (*Coffea* L.) as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Theor. Appl. Genet.* **94**:947-955.
- Louarn J., 1992. *La fertilité des hybrides interspécifiques et les relations génomiques entre caféiers diploïdes d'origine africaine (Genre Coffea L. sous-genre Coffea)*. Thèse de doctorat d'Etat, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, France. 350 pp.
- Pistorius R., 1997. Scientists, plants and politics-A history of the plant genetic resources movement. Rome (Italy): International Plant Genetic Resources Institute; 134 pp.
- Prewo R., Guggisberg A., Lorenzi R.A., Baumann W.T. & Wettstein B.M., 1990. Crystal structure of mozambioside , a diterpene glycoside of *Coffea pseudozanguebariae*. *Phyto-chemistry* **29** (3):990-992.
- Rakotomalala JJR.1992. Diversité biochimique des caféiers : Analyse des acides hydroxycinnamiques, bases puriques et diterpènes glycosides. Particularités des caféiers sauvages de la région malgache (*Mascarocoffea* Chev.). Thèse, Université Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier II, France. 219 pp.
- Robin S., Pathan M.S., Courtois B., Lafitte R., Carandang S., Lanceras S., Amante M., Nguyen H.T. & Li Z., 2003. Mapping osmotic adjustment in an advanced back-cross inbred population of rice. *Theor. Appl. Genet.* **107** (7): 1288–1296.
- Tanksley S.D. & Nelson J.C. 1996., Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor. Appl. Genet.* **92** (2): 191-203.
- Zamir D., 2001. Improving plant breeding with exotic genetic libraries. *Nat. Rev.* **2**: 983-989.