

Contribution à l'étude de la diversité phénotypique des caféiers
en Guyane Française



Figure 1: Parcelle d'Arabusta en collection

Antoine QUESNEL
M2 Biodiversité et Fonctionnement des Écosystèmes
Terrestres

Année universitaire 2017-2018

Encadrement :
Thierry LEROY
Pierre CHARMETANT
thierry.leroy@cirad.fr
pierre.charmetant@cirad.fr

CIRAD
Campus Agronomique
97379 cedex, Kourou,
Guyane Française

I - Introduction :

Le Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) a initié un Centre de Ressources Biologiques de Plantes Pérennes en Guyane (CRB-PPG) pour conserver et valoriser les ressources génétiques des plantes pérennes pour l'agriculture et la forêt.

Dans ce CRB, le CIRAD cherche à maintenir la diversité génétique et phénotypique des collections de cacaoyers, caféiers et des hévéas. Ces trois espèces de plantes pérennes représentent un grand enjeu économique sur l'ensemble de la planète, notamment pour plusieurs pays d'Afrique, d'Asie, d'Océanie et d'Amérique du Sud.

Pour conserver la diversité, il faut tout d'abord la décrire et l'analyser. La structure génétique et phénotypique, les complémentarités entre différents groupes identifiés, pourront être utilisées pour améliorer la productivité, la qualité des produits, la résistance à des aléas biotiques ou abiotiques et l'adaptation à des environnements différents.

Grâce aux travaux d'améliorations menés sur ces espèces, les agriculteurs disposent déjà d'un matériel végétal adapté, garantie du maintien de leurs revenus.

Le CRB hévéa présente un intérêt important face à une maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa, *Microcyclus ulei*, qui sévit en Amérique latine (Barrès, Benoit et al., 2009) et constitue une sérieuse menace pour les plantations africaines et asiatiques (Rivano, 1997). Ainsi la lutte contre cette maladie passe par l'exploitation des ressources génétiques conservées en Guyane et par la création de matériel amélioré tolérant à cette maladie (Guen, 2008). La collection de Guyane est la seule qui contient certaines accessions provenant du bassin Amazonien Guyanais, ce qui en fait une collection unique au monde pour la diversité génétique de cette espèce.

La collection de cacaoyers représente une diversité importante (Ph. Lachenaud, Paulin, Ducamp, & Thevenin, 2007) et sert de référence pour du matériel spontané de Guyane (Philippe Lachenaud, Sounigo, & Sallée, 2005) ; elle contient quelques génotypes rares voire très rares. Le matériel génétique est caractérisé d'un point de vue phénotypique et « génotypé » par des marqueurs moléculaires, ce qui permet d'obtenir un passeport taxonomique complet de chaque accession. Les génotypes les plus intéressants de la collection (vigueur, tolérance aux aléas) seront clonés par greffage pour être testés chez des agriculteurs, ou échangés avec d'autres collections. Leurs qualités et leur originalité sont utilisées dans des programmes d'hybridation et d'amélioration génétique.

La collection de caféiers permet de conserver le patrimoine génétique à long terme et de l'évaluer précisément. Cela permettra de diffuser de manière locale ou internationale des ressources génétiques pour des travaux de recherche et de développement. Dans le contexte écologique de la Guyane, l'espèce *Coffea canephora* est la mieux adaptée et la plus représentée dans le CRB. Le caféier *Coffea X Arabusta* est un hybride développé en Afrique, adapté à la basse altitude, et représenté en Guyane par trente-trois clones.

Lors de mon stage, j'ai commencé mon travail par une évaluation de l'état des collections où j'ai pu observer la diversité phénotypique. Ces mesures des différents descripteurs consolidés permettent d'obtenir une « carte d'identité » des accessions et à terme, de corréler la diversité phénotypique à la diversité génétique analysée par des marqueurs moléculaires en vue de la valorisation des ressources par amélioration.

J'ai caractérisé, chez les caféiers, la morphologie foliaire, les fruits et des graines, les entrenœuds, et la morphologie foliaire de différentes origines.

Ces données permettront de caractériser la diversité phénotypique pour les caractères observables. Les caractères d'intérêt et héréditaires pourront ainsi être sélectionnés, et combinés dans des hybrides intergroupes.

J'ai ensuite intégré ces données phénotypiques dans un outil spécifique des CRB CIRAD, OLGA (Outil Local de Gestion des Accessions). Cet outil permet un accès facile à l'ensemble des descripteurs des génotypes présents dans les CRB.

Mon travail, en contribuant à la caractérisation phénotypique des collections, s'intègre dans le projet européen « REGEPE » qui se propose de faire du CRB-PPG de Guyane un Centre de Ressources Biologiques certifié. Ce projet est soutenu par le Fonds Européen pour Développement Régional (FEDER).

Ainsi le projet REGEPE permettra à l'ensemble de ces données de contribuer à la certification du CRB-PPG à la norme NF S96-900, reconnue au niveau national, régional et international, pour la réception, la conservation et la diffusion des accessions végétales (Hufty, 2001).

II - Matériels et Méthodes :

Près de Sinnamary, en Guyane française, le site de Combi dispose de structures agricoles, d'un parc de matériels et d'un domaine forestier de 1000 hectares. Le site a été mis en place au début des années 1980 avec les premières plantations qui y ont été réalisées. Cette station tropicale du CIRAD est dédiée aux cultures pérennes. 42 hectares sont consacrés aux collections avec environ 1500 génotypes de cacao, de café, d'hévéas, de palmiers américains et

d'arbres forestiers. Ils ont été collectés dans le monde entier. Une grande partie d'entre eux est d'origine sauvage.

Diverses études sur la diversité génétique et la résistance aux maladies ont montré la valeur et l'unicité de ce germoplasme.

Le développement de réseaux de CRB et des échanges entre les collections permet aux chercheurs et agriculteurs de chaque pays de disposer de ces ressources génétiques pour une utilisation optimale des ressources disponibles et alimenter des filières durables de l'agriculture. Notre but est donc de les garder disponibles pour la recherche locale, régionale, internationale et le développement agricole.

Les principales espèces conservées sont :

- Les cacaoyers : plus de 400 accessions de *Theobroma cacao* et des espèces apparentées. Parmi elles, 200 clones et descendances d'origine sauvage appartiennent au groupe génétique « Guiana », originaire de la forêt guyanaise.
- La collection de café contient 410 accessions de *Coffea spp.* incluant l'Arabusta hybride et une grande représentation de différents groupes génétiques de l'espèce *Coffea canephora* (Robusta), plus quelques génotypes de *Coffea arabica*.

Les accessions sont caractérisées et évaluées pour la qualité de leur produit, la tolérance à différents aléas biotiques et abiotiques et parfois pour leur productivité. Des études de diversité ont été menées pour le cacao et l'hévéa à l'aide de marqueurs SSR. Un génotypage d'une grande partie des collections de *Coffea canephora* et de *C. Arabusta* a été fait en 2017 par la technologie GBS.

1- Matériel végétal

Le genre *Coffea*, de la famille des Rubiaceae, comprend approximativement 124 espèces (Davis, Tosh, Ruch, & Fay, 2011). Deux espèces sont principalement utilisées pour la culture du café, le *Coffea arabica* L. et le *Coffea canephora* P. plus connu sous le nom de Robusta. Ce dernier possède un génome de taille moyenne avec 710 millions de paires de bases d'ADN (Denoeud et al., 2014). *C. canephora* ($2n = 2x = 22$) est un diploïde, constitué de populations polymorphes d'individus fortement hétérozygotes. Le *C. arabica* est un allotétraploïde récent ($2n = 4x = 44$) issu d'une hybridation spontanée entre *C. canephora* et *C. eugenoides*. Mis en culture à la fin du 19^{ème} siècle, le *Coffea canephora*, variété Robusta originaire des forêts tropicales africaines de basse altitude, assure 38% de la production mondiale de café en 2017.

Contrairement à *C. arabica*, qui pousse à l'état naturel dans des forêts tropicales fraîches et humides d'altitude et dont la culture n'est possible qu'à une altitude supérieure à 600m (Wintgens, 2008) en zone intertropicale, le *Coffea. canephora* est particulièrement bien adaptée aux conditions climatiques des zones intertropicales de base altitude. Considéré comme moins aromatique que le café issu de *Coffea. arabica* (représentant 62% de la production cafetière mondiale) le café Robusta présente néanmoins des qualités de résistance et de production très intéressantes, notamment sur le marché du café soluble. Avec plus d'un milliard de tasses consommées chaque jour dans le monde, l'amélioration de la variété Robusta constitue donc un enjeu économique majeur et le besoin de nouvelles variétés de *C. canephora* n'a jamais été aussi fortement ressenti par les producteurs et les industriels.

Ainsi des travaux de sélection et d'amélioration génétique des caféiers ont été menés dans de nombreux pays au cours du XXe siècle. L'Arabusta (*Coffea arabusta*) est un caféier hybride provenant de l'hybridation du caféier robusta (*Coffea canephora*), rendu tétraploïde et de l'Arabica (*Coffea arabica*). L'Arabusta est très vigoureux car il s'agit d'un hybride. Il possède une partie de la qualité des arômes de l'arabica et peut se cultiver tout comme le robusta en basse altitude dans les pays tropicaux. Sa teneur en caféine est intermédiaire entre celle du robusta et celle de l'arabica. Il n'est pas cultivé à grande échelle dans le monde.

La diversité de *C. Canephora* a été décrite dans de nombreuses études (Berthaud 1986; Montagnon et al. 1992; Dussert et al. 1999; Montagnon 2000; Gomez et al. 2009; Musoli et al. 2009; Cubry et al. 2013a). Ces auteurs ont identifié deux groupes génétiques basés sur leurs centres de diversité respectifs : le groupe guinéen, formé par les génotypes ouest africains et le groupe congolais composé de génotypes d'Afrique centrale. D'autres études ont également indiqué que la division de *C. canephora* en deux groupes est fortement liée à son isolement géographique et aux événements historiques de glaciations, il y a 18 000 ans (Cubry, Bellis, Pot, Musoli, & Leroy, 2013). Le groupe congolais est divisé en cinq sous-groupes de diversité dans la zone depuis le Gabon jusqu'à l'Ouganda, avec des différenciations importantes. Ces 5 sous-groupes sont les congolais SG1 (Afrique Centrale, côte Ouest), SG2 (Afrique Centrale, bassin congolais), B, C et UW d'Ouganda (Musoli et al., 2009). Nous étudierons essentiellement les sous-groupes des congolais SG1 et SG2.

Les plantes du SG2 sont grandes, vigoureuses, avec de grandes feuilles et beaucoup de fruits, elles sont résistantes à la rouille du café et plus sensibles à la sécheresse (Marraccini et al., 2012).

Un génotypage par GBS a été réalisé en 2017 sur les *C. canephora*. Cette analyse a identifié 7

groupes de diversité. Nous disposons ainsi de 400 génotypes différents et 1000 arbres dans les collections de Guyane.

Le CRB comprend une trentaine de clones de caféier Arabusta. L'Arabusta (*Coffea*^X*Arabusta*) est un caféier hybride provenant de l'hybridation de *Coffea canephora*, rendu tétraploïde par traitement de semences ou de méristèmes à la colchicine, et de *Coffea arabica*. L'Arabusta est très vigoureux car il s'agit d'un hybride. Il possède une partie des qualités aromatiques de l'arabica et peut se cultiver tout comme le robusta en basse altitude dans les pays tropicaux. Sa teneur en caféine est intermédiaire entre celle du robusta et celle de l'arabica. Il n'est pas cultivé à grande échelle dans le monde. Du fait de sa nature hybride, il est multiplié par bouturage d'individus sélectionnés, qui donnent naissance à des clones.

Une partie de ce matériel végétal a été génotypé par GBS. Dix clones d'Arabusta ont été utilisés pour un projet FEDER d'installation de parcelles expérimentales chez des agriculteurs, le projet CLARA (2011 – 2014). Une partie des clones se trouve dans un parc à bois, pour la réalisation de boutures.

2- Méthodes

A mon arrivée en Guyane, j'ai pu réaliser un inventaire complet des collections de café pour l'Arabica et l'Arabusta (voir figure 1). Dans l'ensemble des parcelles, j'ai relevé la présence des plantes, mesuré leur hauteur et évalué leur état végétatif. Par ailleurs, certaines accessions étaient présentes en peu d'exemplaires, j'ai replanté certaines accessions Arabica sous ombrage, dans des conditions qui devraient permettre de conserver l'ensemble des génotypes et de fait le patrimoine génétique du CRB.

Par la suite, j'ai réalisé différentes études sur les grains, sur la longueur des entrenœuds et une dernière sur la morphologie foliaire (IPGRI, 1996).

Les grains de café « normaux » ont une face aplatie (Figure 1 : légende 4). Le grain « caracoli » a une section arrondie (Figure 1 : légende 5), il provient de l'absence ou de la non fécondation d'un des deux ovules que contient normalement la fleur de caféier. Ce type de grain est recherché dans l'Arabica qui en a peu (10%) car sa forme permet une torréfaction plus homogène, qui développe des saveurs et des arômes plus intenses que pour les grains « normaux ».



*Figure 1: Caractérisation des grains de cafés hors normes
1: Grain fripé ; 2: Dissymétrie ; 3: Concave ; 4 : Grain normal ; 5 : Caracoli*

Lors de l'étude des grains anormaux de *C. canephora*, nous avons déterminé quels étaient les différentes anomalies que peuvent présenter les grains de cafés. Nous avons observé des grains anormaux tels que concaves, dissymétriques ou fripés (Figure 1). Ces défauts ont été observés en relation avec les différents clones et leur groupe génétique.

L'analyse a été faite sur vingt-un clones répartis en trois groupes étudiés, à savoir six génotypes des congolais SG1 ont été étudiés, huit génotypes pour les guinéens et sept pour les hybrides intergroupes entre guinéens et congolais (la période de l'étude n'étant pas favorable à la récolte d'autre groupes).

Après une première élimination de grains très anormaux par élimination des fruits flottants, où le grain a avorté (Taux de cerises flottant, au minimum 1 loge sur 2), nous avons sélectionnés deux cents grains de cafés au hasard par génotype étudié. Le pourcentage de fruits flottants était important pour les génotypes du groupe SG1.

Parmi ces deux cents grains de cafés, nous les avons répartis en deux groupes, les grains de cafés normaux et anormaux. Ces deux groupes, sont comptés, pesés et la densité est calculée à partir d'un volume d'eau déplacé pour les grains. J'ai réalisé plusieurs tests non paramétriques de Mann-Whitney par paire pour comparer les différents groupes génétiques indépendants de petite taille les uns entre les autres. Ces tests m'ont déterminé que les distributions des échantillons des grains de cafés sont différents.

Nous avons analysé les longueurs des entrenœuds de *C. canephora* selon les saisons sèches et humides pour essayer de relier cette longueur d'entrenœuds à une différence de tolérance à la sécheresse. Ces différences de la longueur des entrenœuds seront intégrés comme caractère de description des génotypes dans le cadre du CRB.

Plusieurs tiges orthotropes et rameaux plagiotropes ont été prélevés dans les parcelles de la collection. Une première série de mesures a été prise sur cinquante génotypes différents

provenant de trois groupes génétiques qui sont les guinéens (17 génotypes), les congolais SG1(13 génotypes) et SG2 (20 génotypes) pour tenter une sélection de génotypes-candidats présentant une tolérance à la sécheresse plus poussée que les autres variétés.

Nous avons étudié ces tiges et rameaux sur les deux précédentes années alternant entre les saisons humides et sèches. N-1 sera l'année dernière à partir de la dernière sèche durant entre juillet et novembre, et N-2 l'année précédente. Nous repérons les saisonnalités par un raccourcissement brusque sur la tige ou le rameau, qui est facilement observable (voir figure 2). J'ai réalisé des boxplots pour comparer les différences de longueurs entre les tiges orthotropes et les rameaux plagiotropes aux différentes saisons.

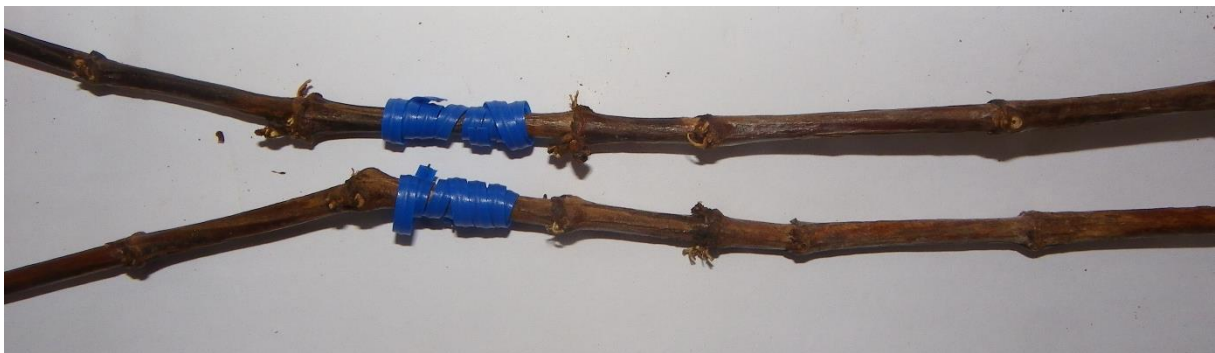


Figure 2: Photo d'entrenœuds à la saison sèche N-1 sur des plagiotropes

J'ai étudié par la même occasion étudié le nombre d'entrenœuds par an par plagiotrope sur les trois groupes génétiques (Les guinéens, congolais SG1 et SG2) que nous avons pu prélever, pour cela j'ai réalisé une ANOVA, avec un tableau des résidus. J'ai regroupé ces données sous forme d'un tableau comparatif des groupes génétiques.

Nous avons analysé la diversité de la morphologie foliaire des Arabusta notamment sa variation au sein d'un clone et entre les clones sur la station (parc à bois, collections et essai). Par ailleurs, lors d'une mission à Apatou en appui au projet BREEDCAFS sur la valorisation du café Arabusta en Guyane, j'ai cherché à vérifier, à l'aide des caractères phénotypiques, l'identité des plantes, en particulier quand leur aspect général laissait un doute sur leur appartenance à un clone précis (erreur d'étiquetage). Le but n'est pas de faire une description complète de la structure des feuilles, mais de s'appuyer sur un nombre de traits morphologiques afin de différencier les clones Arabusta de manière efficace, chez les individus du parc à bois d'une part, et les individus en champ d'autre part. Les conditions du parc à bois sont homogènes et l'analyse des clones en champs nous permettra d'estimer dans quelle mesure la feuille est une source de marqueurs morphologiques fiables pour distinguer les clones Arabusta. J'ai

commencé par regarder le rapport largeur sur longueur des feuilles d'un Arabusta entre la station Combi et à Apatou. J'ai réalisé une ANOVA avec un facteur de classification a été réalisée sur les résultats pour tester la variabilité intra et inter-clonale sur l'ensemble des descripteurs phénotypiques (voir tableau 4). Les conditions d'application n'étant pas remplies même après transformation des variables par la méthode box-cox. Je me suis dirigé vers des tests non-paramétriques de Kruskal-Wallis, généralisation du test de Wildcoxon Mann-Whitney. Lorsque ces derniers sont significatifs, un test de comparaison multiple de Tukey (test de la différence franchement significative) a été utilisé afin de comparer les clones deux à deux pour l'ensemble des traits étudiés. De plus, une Analyse en Composantes Principales (ACP) centrée-réduite a été réalisée afin de discriminer les génotypes en fonction de leur profil morphologique foliaire et de connaître la puissance discriminante des variables choisies. La différence entre les feuilles récoltées sur les clones en champs à Apatou et à la station Combi a été testés pour chaque critère à l'aide d'une ANOVA non paramétrique à un facteur de classification, et la différence entre les deux matrices de distance avec un test de corrélation de Mantel à 9999 réplicats.

Lors de l'échantillonnage à la station Combi, j'ai prélevé sur les 31 génotypes d'Arabusta un ensemble de cinq à dix feuilles selon les possibilités d'échantillonnage. De la même manière, sur chaque génotype, j'ai réalisé une moyenne sur ces cinq ou dix feuilles adultes au-delà du 3^{ème} nœud, à partir du bourgeon terminal et à partir du 3^{ème} nœud des rameaux plagiotropes depuis l'extrémité de la branche. Toutes les pièces foliaires (pétioles, nervures primaires et secondaires) sont considérées comme faisant partie de la feuille et donc prises en compte pour les mesures. Ces feuilles que j'ai scannées à l'aide d'un scanner RICOH MC 3004 puis importé les images sous le logiciel ImageJ (ImageJ, National Institutes of Health) ce qui m'a permis d'obtenir des données sur douze descripteurs phénotypiques, dont cinq descripteurs consolidés. L'ensemble de ces mesures a été faite sur chaque feuille prélevée. Par la suite, les feuilles ont été mises à sécher à l'étuve pendant trois jours à 60°C selon le protocole indiqué par Cornelissen et al., (2003) afin de déterminer la masse sèche. Cependant, tous les clones n'étaient pas présents en double dans le parc à bois et dans les collections ce qui n'a pas permis de faire une comparaison totale.

Lors de la mission à Apatou, j'ai pu échantillonner cinq génotypes différents dans trois parcelles d'exploitants. Dans une première parcelle, j'ai prélevé trois clones de quatre génotypes différents (Génotype 1,3,4 et 7) et quinze clones sur le génotype 8. Dans les deux autres parcelles, j'ai prélevé du génotype 3 sur dix-sept clones et vingt-huit clones sur le génotype 8.

Chez Mr Welline Harry, l'un des quatre agriculteurs associés au projet BREEDCAF, j'ai effectué une mesure sur cinq génotypes des dix présents afin de confirmer les différences entre les génotypes, et de vérifier l'absence de hors type au sein des génotypes. Par ailleurs, j'ai pu comparer le génotype 7 sur les différents lieux d'études.

Un lien entre le génotypage et la description phénotypique de ces génotypes de la collection contribuera à l'établissement d'un passeport complet et de qualité pour la certification du CRB.

III- Résultats

1- Les grains de cafés de *Coffea Canephora* (le Robusta) :

Tableau 1: Résultat de l'étude des grains de C.Canephora

Moyenne des groupes génétiques	Taux de cerises flottantes	Pourcentage de grains anormaux	Poids moyen des grains normaux (g)	Masse volumique des grains normaux	Masse volumique des grains anormaux
SG1	17,5%	16,9%	0,13	1,24	1,06
Guinéen	6,0%	8,6%	0,11	1,25	
Hybrides	5,0%	3,4%	0,13	1,12	

Le tableau 1, ci-dessous, présente les résultats de l'étude. Six génotypes des congolais SG1 ont été étudiés, huit génotypes pour les guinéens et sept pour les hybrides. Pour l'ensemble du groupe génétique congolais SG1, on compte beaucoup de cerises flottantes et de grains anormaux, avec un pourcentage allant de 2.5% à 33%. Les guinéens semblent présenter des taux de cerises flottantes et de grains anormaux plus faibles.

Enfin, le groupe génétique des hybrides inter-groupes, présente un taux de grains anormaux faible compris entre 0 et 8,5%, et un faible taux de cerises flottantes (Bertrand, 2011).

2- *C. canephora* : Etude sur les entrenœuds

Les résultats des longueurs des entrenœuds dans les différents groupes génétiques sont présentés dans la figure 2.

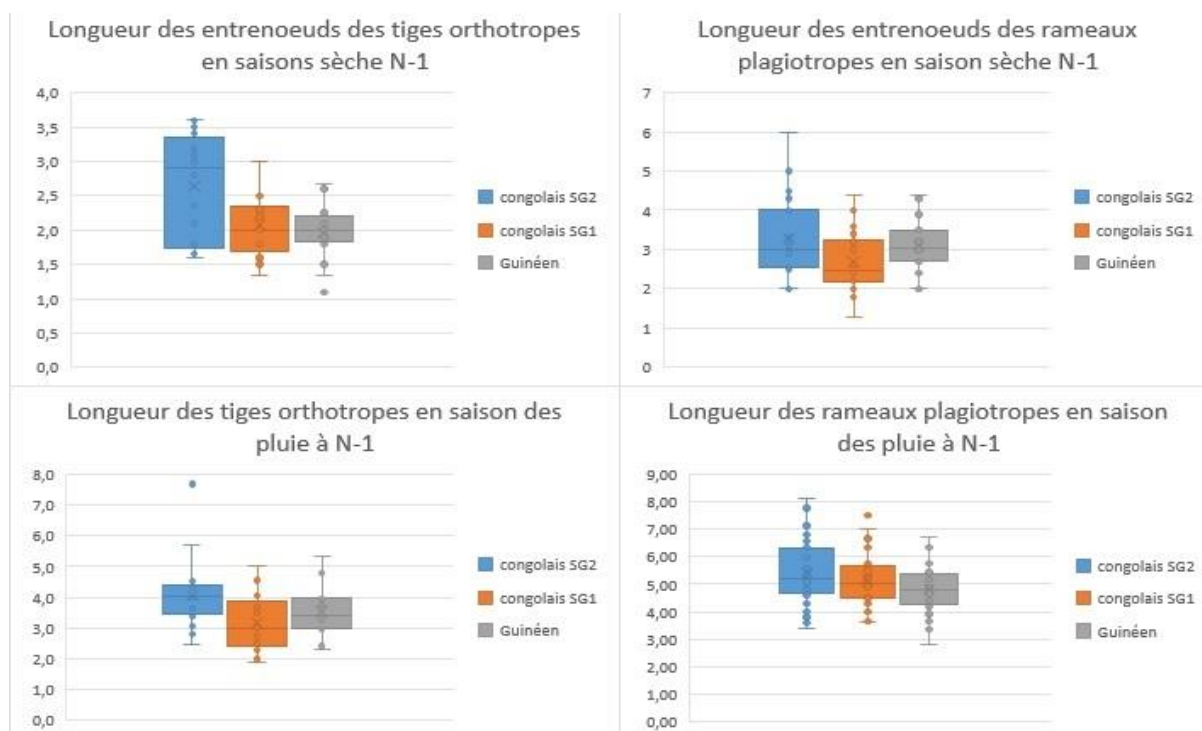


Figure 2: Longueur des tiges orthotropes et rameaux plagiotropes aux différentes saisons

La sélection de génotype-candidats présentant une tolérance à la sécheresse, s'est montré sur seulement deux génotypes. Malgré des résultats présents, l'évaluation de seulement deux génotypes ne présentent pas avec certitude une tolérance à la sécheresse. Les résultats ne sont pas significatifs actuellement.

Tableau 2: Résultat de l'ANOVA du nombre d'entrenœuds par an et par plagiotrope

	Somme des carrés	DL	Moyenne des carrés	F	P-value
Inter-groupe	41.3305	2	20.6653	8.748	0.0006331
Intra-groupe	103.946	44	2.36241		Permutation p (n=99999)
Total :	145.277	46	0.00067		

La valeur de p est inférieure à 0.05, prouvant qu'il y a une différence significative dans les moyennes.

Le tableau 2 présente une ANOVA pour le nombre d'entrenœuds par an par plagiotrope sur les trois groupes génétiques (Les guinéens, congolais SG1 et SG2) que nous avons pu prélever.

Groupe génétique	Moyenne du nombre d'entrenœuds par plagiotropes par an
Guinéen	6
Congolais SG2	8
Congolais SG1	7

Tableau 3: Nombre d'entrenœuds en moyenne par an par plagiotropes

Le tableau 3 présente le nombre d'entrenœuds par plagiotropes et par an. Les « guinéens » ont la croissance la plus lente.

3- La morphologie foliaire des Arabusta

Nous avons analysé la diversité de la morphologie foliaire des Arabusta à travers divers boxplots ci-dessous dans la figure 3.

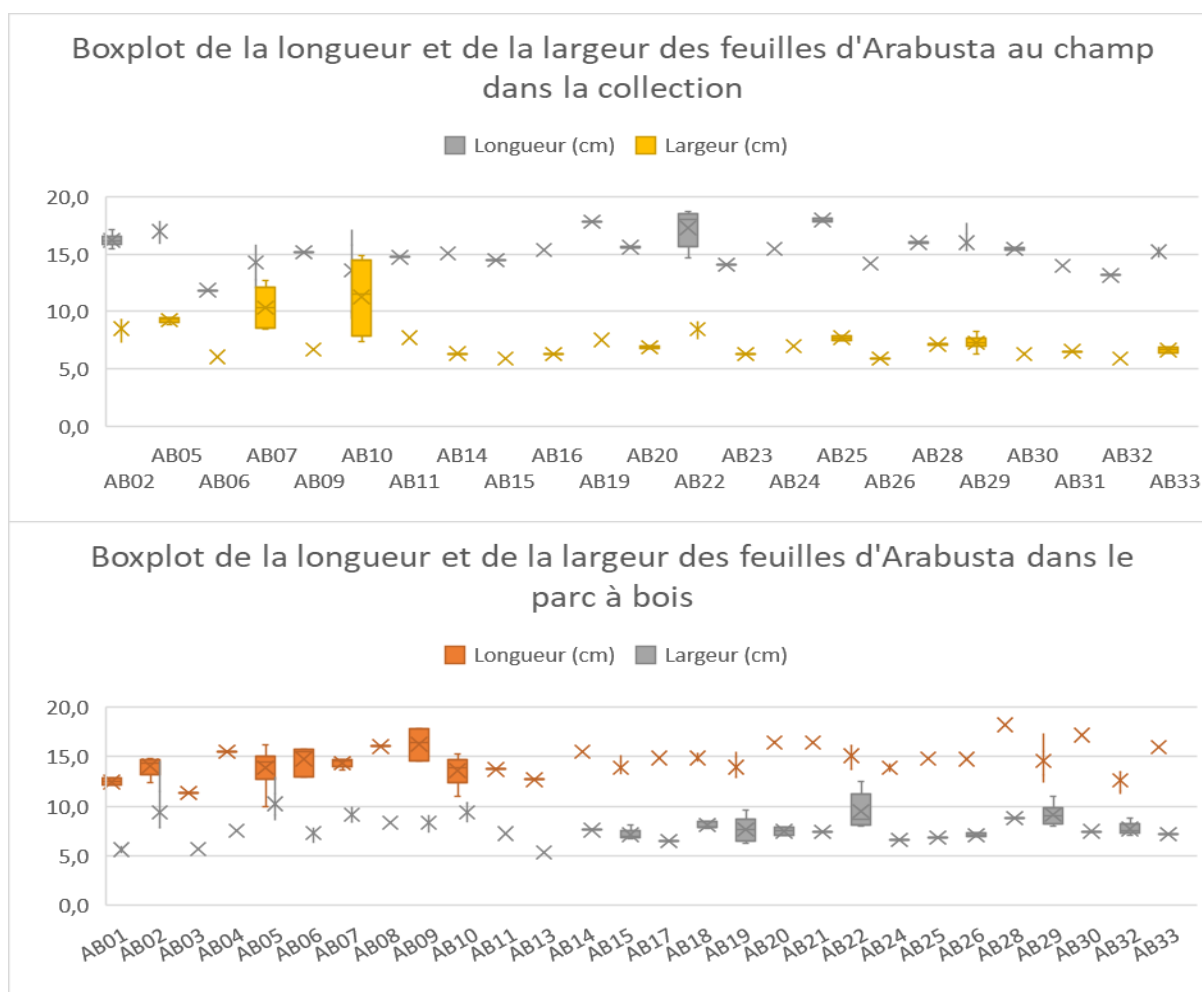


Figure 3 : Boxplot de la longueur et de la largeur des feuilles d'Arabusta dans la collection et dans le parc à bois

Nous pouvons remarquer, (figure 3) qu'il y a une variabilité de la longueur et de la largeur des feuilles entre les différents Arabusta dans les champs et dans les collections, et également au sein du même site. Comme le montre AB06, qui présente une longueur de 14,71 cm au champ, contre une longueur de 11,84 cm dans le parc à bois, même constat pour l'échantillon AB10. D'une part, ces variations aux champs varient de 9,33cm pour AB10 jusqu'à 18,66 cm pour AB22. D'autre part, dans le parc à bois les feuilles varient entre 9,96 cm pour AB05 à 18,15 cm pour AB28.

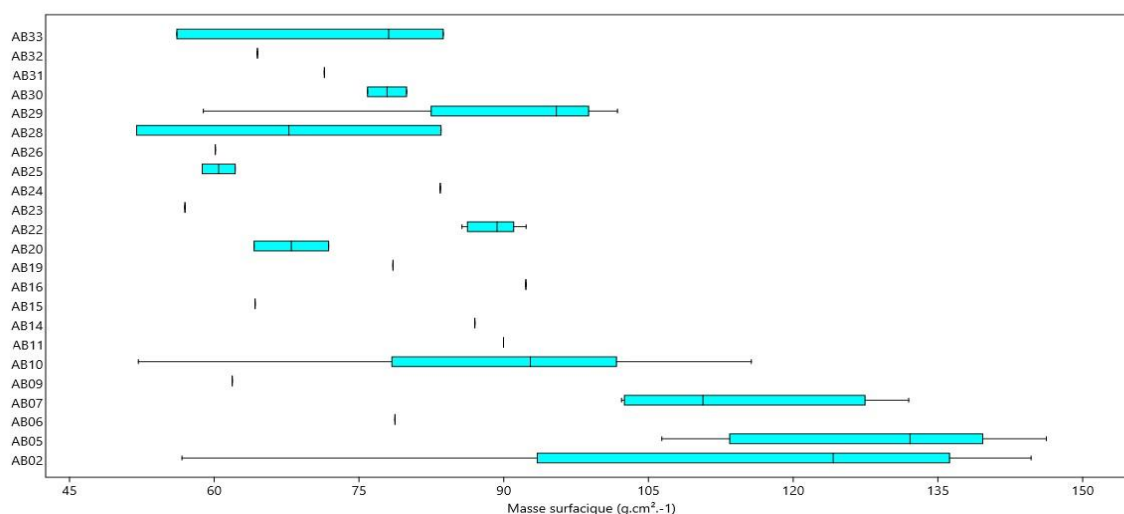


Figure 4: Masse surfacique des feuilles d'Arabusta dans la collection au champ à la Station Combi

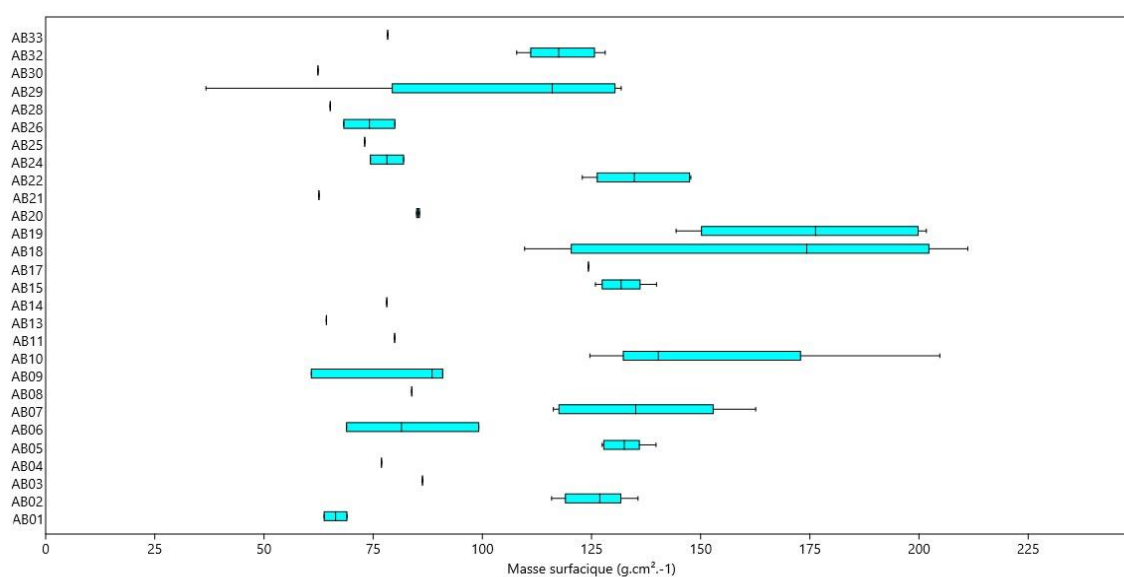


Figure 5: Masse surfacique des feuilles d'Arabusta dans le parc à bois à la station Combi

En ce qui concerne les masses surfaciques, elles se montrent aussi variées entre champ et parc à bois. Que ce soit au sein d'une même localisation ou entre la collection et le parc à bois. En effet, la masse surfacique varie entre $5,95 \times 10^{-6} \text{ g.cm}^{-2}$ avec AB28 jusqu'à $1,46 \times 10^{-5} \text{ g.cm}^{-2}$ avec AB05 au sein de la collection. Nous constatons que pour l'Arabusta 32, la moyenne de la masse surfacique au sein du parc à bois est $118,20 \text{ g.cm}^{-2}$. Contrairement à la collection où sa moyenne est de $64,47 \text{ g.cm}^{-2}$.

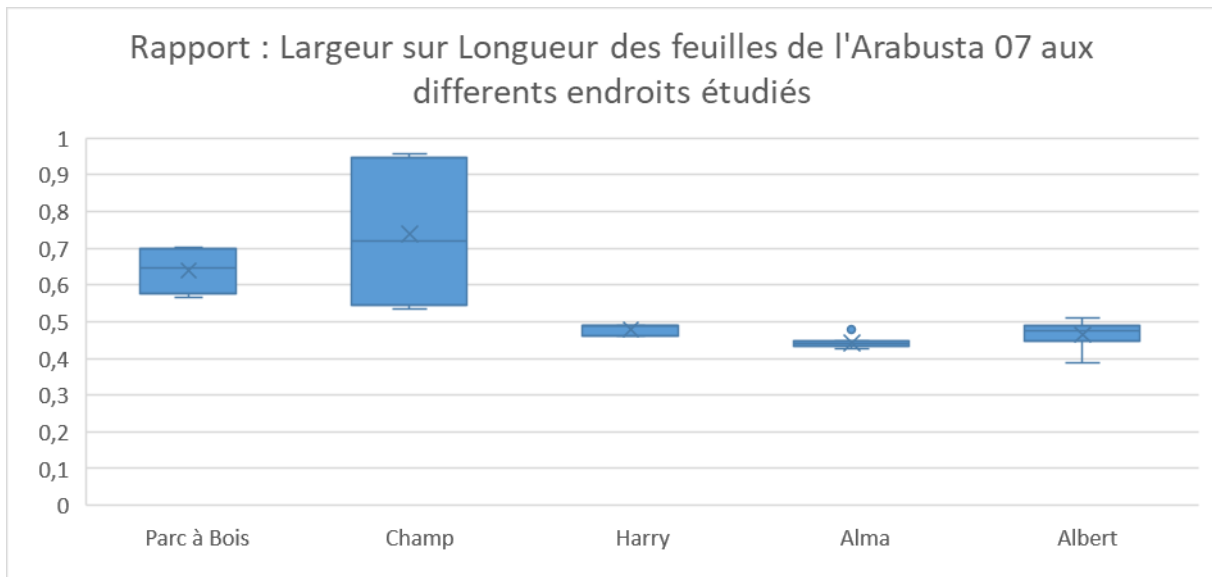


Figure 6: Boxplot du rapport de la largeur sur la longueur des feuilles de l'Arabusta 07 aux différents endroits étudiés

Le boxplot (Figure 6) présente les rapports de la largeur sur la longueur des feuilles d'Arabusta 07 aux différents lieux d'études. On note une grande variation entre la station Combi et à Apatou globalement, avec notamment une variation importante aux champs.

Tableau 3: ANOVA réalisée sur l'ensemble des descripteurs étudiés chez H. Welline (Apatou)

	Somme des carrées	DL	Moyenne des carrées	F	P-value
Inter-groupe	1.64 ^E 06	8	205845	1023	0
Intra-groupe	264172	1313	201.197		Permutation p (n=99999) 1 ^E -05
Total :	1.91 ^E 06	1321	206046.197	1023	

La valeur de p est inférieure à 0,05 prouvant qu'il y a une différence significative dans les moyennes

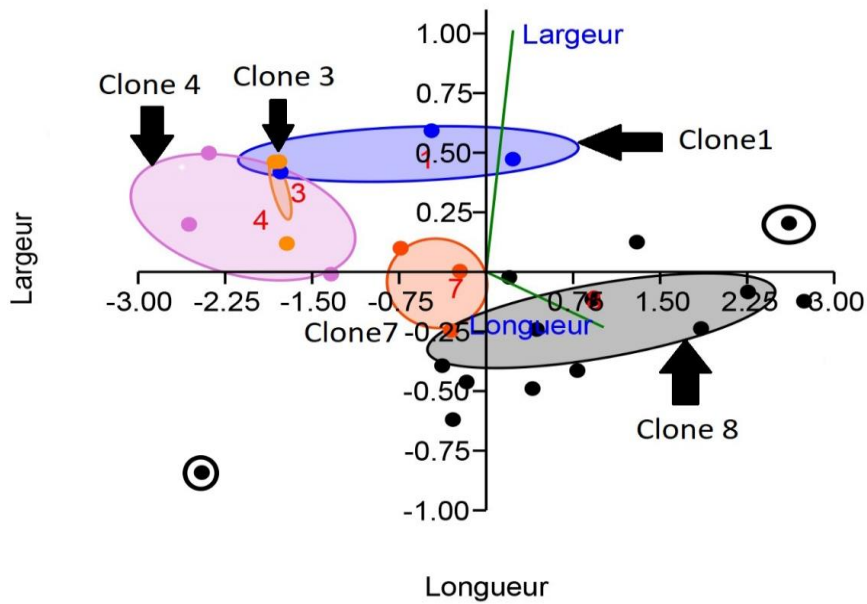


Figure 7: ACP de la longueur et de la largeur des feuilles à Apatou chez Mr Welline Harry

Une Analyse en Composante Principales (ACP) (figure 7) centrée-réduite a été réalisée avec 2 variables pour une lecture simplifiée. Nous observons que les cinq clones présentent des différences marquées pour les caractères phénotypiques de la longueur et de la largeur des feuilles. Cependant, nous pouvons remarquer deux arbres du clone 8 qui se différencient situés dans les cercles. Chacun des clones se montrent différent hors mis le clone 3 qui se mêle aux clones 1 et 4 (ils sont issus du même croisement).

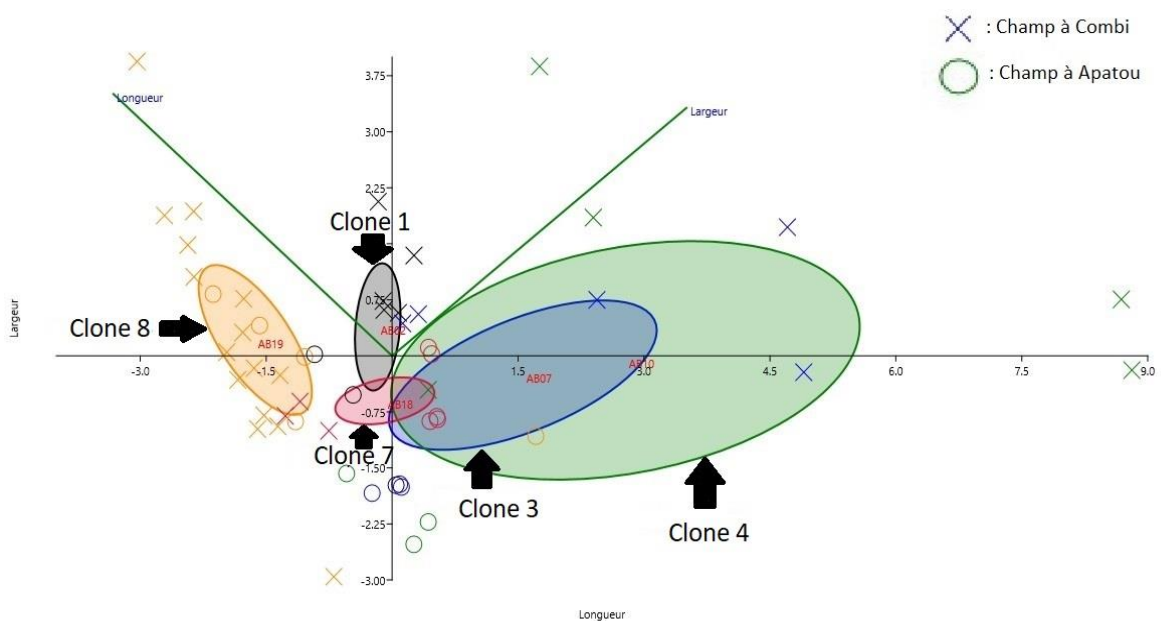


Figure 8: ACP de la longueur et de la largeur de différents génotypes étudiés à Combi forêt et Apatou

Nous avons ensuite comparé les données au champ sur la station de Combi et dans le champ de Mr Welline Harry à Apatou. Au vu de cette ACP (figure 8), nous remarquons que pour les clones 1, 7 et 8, il y a des similitudes entre les clones présents à Combi et à Apatou. Contrairement aux clones 3 et 4 qui révèlent une différence remarquable entre les deux localisations. Ils possèdent en effet une largeur totalement différente, quasiment divisé par deux par rapport aux génotypes présent à Combi pour l'ensemble des plantes étudiées.

IV- Discussion :

Les études montrent une réelle diversité phénotypique. La première étude réalisée sur les grains de café expose des résultats spécifiques d'une interaction génotype et environnement. Le tableau 1 souligne que les trois groupes génétiques sont morphologiquement différents pour les caractères des grains. L'ensemble de ces analyses met en avant une nouvelle caractéristique d'un trait phénotypique du *C. canephora*. A savoir, un taux élevé de grains anormaux dans les congolais SG1. Il y a un effet d'hétérosis pour la vigueur qui donne un effet de plasticité et donc une faculté d'adaptation présentant de moindre variation de leurs caractéristiques générales. Les hybrides présentent une capacité supérieure de réagir à l'environnement, les hybrides montrant une moindre sensibilité aux variations micro-environnementales (Bertrand, 2011).

Par ailleurs, pour les grains de congolais SG1, un chercheur du Centre National de Recherche Agronomique en Côte d'Ivoire n'a jamais constaté un fort taux d'anomalies sur les cerises et les grains SG1 (Communication personnelle). Il est donc possible que les taux importants de grains anormaux observés en Guyane soient spécifiques de la localisation et résultent d'une interaction génotype X environnement particulier (pluviométrie, ensoleillement, sol...).

L'analyse d'une descendance A03 (SG1) x C61 (hybride intergroupe), présente à Combi, a confirmé que le groupe SG1 présente beaucoup de grains anormaux et que ce caractère pouvait être transmis à sa descendance.

Au travers de cette étude des grains de café de *C. canephora*, nous devions repérer des groupes génétiques qui présentent sur la station de Combi des anomalies sur les grains. Cette étude a permis de montrer les caractéristiques de ces différents grains anormaux et leur proportion dans quelques groupes génétiques de *Coffea canephora*

Cette contribution pour le CRB sera bénéfique lors d'échange de matériel végétal. Elle permettra de mieux connaître les caractéristiques spécifiques des grains de café de ces trois groupes génétiques. Cependant, les résultats sur le taux de cerises flottantes sont à considérer

avec prudence, car l'analyse a été faite en fin de maturation sur la plupart des génotypes on peut trouver des réponses aux questions. Avec une certitude pour le groupe génétique SG1.

Pour l'étude sur la longueur des entrenœuds, dans le tableau comparatif des longueurs aux différentes saisons, le tableau présente une réduction significative pour les guinéens en saison sèche. Cependant aucun des groupes ne semble avoir de variabilité sensiblement différente hormis une valeur des guinéens vu dans le tableau des résidus. De plus, nous pouvons remarquer que les groupes génétiques guinéens et les congolais SG1 possèdent des entrenœuds toujours plus courts que le groupe génétique des congolais SG2. Enfin, le groupe génétique congolais SG2, présente plus d'entrenœuds en moyenne comparé aux autres groupes avec une différence significative. Cependant pour tenter une sélection de génotypes-candidats présentant une tolérance à la sécheresse plus poussée que les autres variétés, il sera nécessaire de réaliser un plus grand échantillonnage. Par manque de temps, je n'aurais pas eu le temps de continuer cette étude.

Quant à l'étude sur la morphologie foliaire, elle montre une nouvelle fois la diversité des génotypes des caféiers au sein d'une variété mais aussi dans l'ensemble des collections. En effet, les descripteurs consolidés des traits phénotypiques sur la longueur, la largeur et d'autres descripteurs consolidés prouvent une diversité entre les différents génotypes d'Arabusta. Ces caféiers sont dans le CRB, ce qui permettra de mettre en avant la qualité et le patrimoine phénotypique et génétique diversifié dans ce futur CRB-PPG. Néanmoins, les mêmes mesures effectuées à Apatou et Combi sur la morphologie foliaire montrent des différences et ne se classent pas de la même manière. J'ai distingué avec le rapport de la largeur sur la longueur des feuilles que les conditions de luminosité ne sont pas identiques. Ainsi, il est important de prendre en compte que les descripteurs ne sont pas consolidés à ce stade entre les lieux d'études. Néanmoins, lors de l'échantillonnage le choix des feuilles est difficile car on trouve des feuilles de taille et de forme très différentes au sein du même arbre, probablement du fait de l'état physiologique de la plante, et du niveau d'ombrage (auto ombrage ou ombrage extérieur) lors de l'apparition et du développement de la feuille.

Ces descripteurs phénotypiques présentent des particularités de l'endroit étudiés dû aux variations environnementales.

Nous pouvons remarquer pour l'étude de la comparaison des génotypes, que ceux-ci présentent des nuances sur l'ensemble des descripteurs consolidés étudiés tels que la largeur des feuilles tout comme leur longueur, mais aussi longueur sur largeur, longueur du pétiole, longueur des

entrecœuds. La comparaison des génotypes entre la station Combi forêt et chez un agriculteur d'Apatou montre une similitude sur certains génotypes.

Les différences observées sur les clones 3 et 4 s'expliqueraient par une différence de luminosité qui pourrait influencer la caractéristique de la largeur et de la longueur des feuilles. L'explication d'un hors type n'est pas possible, car l'ensemble des génotypes 3 et 4 pour la morphologie foliaire se corrèlent entre eux au sein des différents champs à Apatou comme à la station Combi. En effet, les clones 3 se présentent dans la collection sous un ombrage forestier tout comme pour l'Arabusta du clone 4. Contrairement aux clones 1, 7 et 8 observés à Combi et Apatou, ceux-ci présentent peu de différences car les conditions de luminosité sont identiques et ne présentent pas d'ombrage. L'influence du soleil sur les feuilles réduit la longueur et la largeur de la feuille lors d'une forte exposition et inversement lorsque les feuilles sont à l'ombre (Communication personnelle P.Charmetant). Les variations environnementales influencent donc fortement la morphologie des feuilles d'Arabusta (Ordoñez et al., 2008). Il est également reconnu que les caractéristiques foliaires sont influencées par la fertilité du sol (McDonald, Fonseca, Overton, & Westoby, n.d.). Plus précisément, (Franck, 2005) a montré que la plasticité architecturale des feuilles chez *C.arabica* était influencée de façon importante par la lumière, notamment pour des traits comme la surface foliaire, la densité stomatique ou encore l'épaisseur des parenchymes. Le café est une plante homoblastique et contrairement aux plantes hétéroblastiques, le caféier modifie ces paramètres foliaires de manière graduelle. De plus, en système agroforestier, la complexité structurale de la canopée rend la luminosité non uniforme avec des variations d'intensité lumineuse pouvant aller jusqu'à 30%, selon l'orientation de la parcelle (Alkimim et al., 2018). C'est pourquoi j'ai pu observer ces différences majeures sur ces clones 3 et 4 d'un endroit à l'autre avec une luminosité provoquant des variations des caractéristiques morphologiques.

Le troisième champ de Mr Welline Harry présentera huit nouveaux descripteurs consolidés qui seront introduits dans OLGA afin de contribuer à la certification du CRB-PPG. Je n'ai pas pu obtenir plus de données dans les autres champs dû à l'impossibilité de conserver mes échantillons de feuilles le temps de la mission excepté le dernier jour.

Ces manipulations m'ont permis de réaliser des gabarits qui seront intégrés dans OLGA pour permettre un accès visible aux données sur ce portail. Les données que j'ai collectées sont des descripteurs de caractérisation phénotypique. Ils assurent une différenciation facile et rapide entre phénotypes. Ils ont généralement une forte héritabilité, peuvent être observés facilement à l'œil nu et sont également exprimés dans tous les milieux. Les descripteurs sont sensibles aux

différences environnementales (longueur des entrenœuds) mais sont généralement utiles pour l'amélioration des plantes cultivées tandis que d'autres peuvent comporter une caractérisation biochimique ou moléculaire complexe. Ils comprennent des caractères relatifs aux rendements aux résultats agronomiques, à la sensibilité au stress et des caractères biochimique et cytologiques.

Celles-ci pourront être utilisées à une échelle internationale et des échanges de matériel végétal pourront être réalisés tout en connaissant les différentes caractéristiques des plantes au sein de la collection.

V – Conclusion :

Les travaux effectués sur les collections de Guyane m'ont permis de réaliser des gabarits qui seront intégrés dans OLGA pour caractériser une « carte d'identité » de qualité contribuant à la certification du CRB. Nous pourrions ainsi y distinguer la diversité phénotypique des différents géotypes. De plus, ces différents traits phénotypiques sur lesquels j'ai pu travailler montrent qu'à travers différents descripteurs consolidés, une carte taxonomique des géotypes peut être établie, en relation avec la diversité génétique.

A partir des travaux préliminaires, j'ai pu aborder la problématique de la tolérance à la sécheresse et j'ai pu visualiser des différences entre les groupes génétiques par rapport au nombre d'entrenœuds en moyenne par plagiotropes et par an. Ceci peut se révéler important dans une optique de sélection pour le changement climatique. Mais cette étude doit être poursuivie.

J'ai contribué à établir que certains descripteurs consolidés, comme la forme, les caractéristiques des feuilles, le nombre et la longueur des entrenœuds orthotropes comme plagiotropes sont des données phénotypiques importantes et fiables qui seront intégrées dans la carte d'identité des géotypes du CRB. Cependant, comme pour l'utilisation des géotypes SG1, ils devront être manipulés avec précaution pour tenir compte de leur fort taux de fruits anormaux, ce caractère qui est leur est propre, sera noté dans les caractéristiques lors d'échange de matériel végétal pour le CRB.

Les traits phénotypiques d'intérêt agronomique, pour lesquels j'ai participé à une évaluation de la variabilité au sein des collections du futur CRB PPG, permettront de fournir des éléments de connaissance via des publications scientifiques pour les programmes d'amélioration variétale à travers le monde.

L'intégration, dans OLGA, des données sur les traits phénotypiques et à laquelle j'ai contribué pour les intégrer dans la base OLGA est nécessaire pour que le CRB satisfasse aux critères de qualité qui permettront la certification du CRB. Le CIRAD envisage d'élargir son champ d'action aux arbres forestiers tropicaux, un tel CRB constituerait une première mondiale.

Cette expérience dans ces travaux de recherche en Guyane m'a permis de découvrir, de comprendre et d'apprendre sur une biodiversité exceptionnelle, où les interactions biotiques ou abiotiques sont nombreuses. Un milieu où les maladies peuvent se répandre rapidement et mettre en péril certaines filières économiques, tels que ces plantes pérennes que j'ai pu étudier. Cette variabilité phénotypique que j'ai pu observer m'a donné la possibilité de mieux comprendre l'intérêt de préserver le patrimoine génétique. Celui-ci permettra de créer de nouveaux hybrides grâce notamment à cette étude sur sa qualité et ses attributs.

Ce stage m'a donné une forte envie d'en découvrir davantage sur les plantes tropicales pérennes et sur les interactions avec l'environnement. Les travaux de recherche sont essentiels pour le développement agricole, comme pour la connaissance des nombreuses interactions avec le milieu, ce que j'ai pu évoquer avec des étudiants et diplômés rencontrés lors de ce stage.

Remerciements :

Tout d'abord, j'adresse mes remerciements à mes maîtres de stage, Mr Leroy Thierry et Mr Charmetant Pierre qui m'ont donné l'opportunité de réaliser un stage en milieu tropical. Je les remercie pour leur accueil, le partage de leurs connaissances et d'aide à la rédaction. Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage comme Mr Perthuis Bernard, l'équipe de la station Combi.

Je remercie également toute l'équipe du CIRAD et de la station Combi pour leur accueil, leur esprit d'équipe avec qui j'ai pu échanger et apprendre diverses connaissances.

Bibliographie :

- Barrès, Benoit, Seguin, Marc, Rivano, Franck, Guyot, Jean, Cilas, Christian, & Carlier, Jean. (2009). Fort niveaux de différenciation et de recombinaison dans les populations sud-américaines de *Microcyclus ulei*, agent pathogène du “South American Leaf Blight” (SALB) de l’hévéa.
- Cornelissen, J. H. C., Lavorel, S., Garnier, E., Díaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D. E., ... Poorter, H. (2003). A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51(4), 335–380.
- Cubry, P., Bellis, F. D., Pot, D., Musoli, P., & Leroy, T. (2013). Global analysis of *Coffea canephora* Pierre ex Froehner (Rubiaceae) from the Guineo-Congolese region reveals impacts from climatic refuges and migration effects. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(2), 483–501.
- Davis, A. P., Tosh, J., Ruch, N., & Fay, M. F. (2011). Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 167(4), 357–377.
- Denoeud, F., Carretero-Paulet, L., Dereeper, A., Droc, G., Guyot, R., Pietrella, M., ... Lashermes, P. (2014). The coffee genome provides insight into the convergent evolution of caffeine biosynthesis. *Science*, 345(6201), 1181–1184.
- Franck, B. (2005). *Effet de la charge en fruit et de l’ombrage sur l’assimilation carbonée, la croissance et la production du caféier (Coffea arabica L.)*. École nationale supérieure agronomique (Montpellier).
- Guen, V. L. (2008, December 12). *Exploration de la diversité des résistances génétiques à la maladie sud-américaine des feuilles de l’hévéa (Microcyclus ulei) par cartographie et génétique d’association au sein de populations naturelles* (phdthesis).
- Hufty, M. (2001). La gouvernance internationale de la biodiversité. *Études internationales*, 32(1), 5–29.
- Lachenaud, Ph., Paulin, D., Ducamp, M., & Thevenin, J.-M. (2007). Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Scientia Horticulturae*, 113(4), 313–321.
- Lachenaud, Philippe, Sounigo, O., & Sallée, B. (2005). Les cacaoyers spontanés de Guyane française: état des recherches. *Acta Botanica Gallica*, 152(3), 325–346.
- Marraccini, P., Vinecky, F., Alves, G. S. C., Ramos, H. J. O., Elbelt, S., Vieira, N. G., Andrade, A. C. (2012). Differentially expressed genes and proteins upon drought acclimation in tolerant and sensitive genotypes of *Coffea canephora*. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4191–4212.
- McDonald, P. G., Fonseca, C. R., Overton, J. M., & Westoby, M. (n.d.). Leaf-size divergence along rainfall and soil-nutrient gradients: is the method of size reduction common among clades? *Functional Ecology*, 17(1), 50–57.
- Musoli, P., Cubry, P., Aluk, F., Leroy, T. (2009). Genetic differentiation of wild and cultivated populations: diversity of *Coffea canephora* Pierre in Uganda. *Genome*, 52(7), 634–646.
- Ordoñez, J. C., Bodegom, P. M. V., Witte, J.-P. M., Wright, I. J., Reich, P. B., & Aerts, R. (2008). A global study of relationships between leaf traits, climate and soil measures of nutrient fertility. *Global Ecology and Biogeography*, 18(2), 137–149.
- Rivano, F. (1997). La maladie Sud-américaine des feuilles de l’hévéa. I. Variabilité du pouvoir pathogène de *Microcyclus ulei*. *Plantations, Recherche, Développement*, 4, 104–114.
- Wintgens, J. N. (2008). The Coffee Plant. In *Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production* (pp. 1–24). Wiley-Blackwell.

Contribution :

Lors de la réalisation de mon stage, j'ai pu continuer l'étude phénotypique des Arabusta dans la collection et dans le parc à bois dans la collection qui avait été réalisé par Mr Chauvrat Antoine en 2016 lors d'un stage de Master 2. Cependant, j'ai rajouté certains descripteurs phénotypiques tels que la longueur du pétiole, la forme de l'apex et la forme de la feuille. Ces derniers sont des descripteurs consolidés (IPGRI, 1996). De plus, j'ai pu aller à Apatou afin de réaliser une étude de comparaison entre les caféiers présents chez des agriculteurs et à la station Combi qui n'avait pas été réalisé auparavant.

Un protocole avait été mis en place pour l'échantillonnage des feuilles mais pas pour l'étude des grains de café et la longueur des entrenœuds. J'ai suivi les protocoles de Mr Perthuis Bernard qui m'a aidé dans les protocoles et la vérification de mon travail.

Lors de mon stage, j'ai pu contribuer à la base de donnée qui sera accessible sur OLGA. Par l'intermédiaire de gabarit complété par moi-même des données exploitées qui seront ajoutés par la responsable de OLGA, Franciane Nuissier.

Abstract:

As part of the REGEPE project located in French Guiana, financed by the European Union, the Territorial Community of French Guiana (TCG) and the Special Operation Research (SOR).

The aim of this study is to look for relations between the phenotypic characters and the genetic analyzes from a collection of coffee trees. These traits will allow us to improve the genetic crossover by an optimal selection through the genetic diversity of the French Guiana's collections or international accessions. This will improve productivity, product quality, resistance to pathogens, conservation of plant material.

In order to understand the diversity and choose the best matches, we observed the phenotypic diversity of different species of coffee trees. We measured morphologic traits diversity between the species present in the French Guiana Biological Center of Resources. We characterized morphologic traits, such as: leaves, branches, fruits and seeds.

All the data is available on the Local Access Management Tool (LAMT).

All these data will contribute to help the Biological Center of Resources of perennial plants in French Guiana (BCR PPG) to receive the NF S96-900 standard. This standard is recognized, needed, at an international level, to receive, conserve and disseminate plants accessions.