Le cacaoyer

Claire Lanaud, Juan-Carlos Motamayor,
Olivier Sounigo

La domestication du cacaoyer est ancienne. Sa culture était pratiquée il y a 2 000 à 3 000 ans par les civilisations précolombiennes, en particulier par les Mayas et les Aztèques (PARADIS, 1979). Les fèves de cacao étaient utilisées dans leur breuvage, appelé « chocolatl », où étaient mélangés et broyés cacao, maïs, piment et autres plantes aromatiques. Les fèves de cacao étaient si appréciées qu'elles constituaient aussi une monnaie d'échange. Avant même l'arrivée des Espagnols, le cacao a voyagé en empruntant les routes de commerce des Mayas et des Aztèques, mais aussi grâce aux Pipil-Nicaraos (YOUNG, 1994 ; COE et COE, 1996). En 1585, les Espagnols ont expédié du cacao en Espagne, où le secret du chocolat — une version sucrée du breuvage — a été gardé pendant une quarantaine d'années. La mode de cette boisson chocolatée s'est ensuite répandue en Europe. Pour répondre à une demande croissante, les plantations de cacaoyers se sont étendues en Amérique centrale et de nouvelles plantations ont été mises en place dans plusieurs îles de la Caraïbe, comme à la Trinité, en 1525, et à la Jamaïque. Des cacaoyers provenant d'Amérique centrale, en particulier du Costa Rica, ont été introduits au Venezuela par les Espagnols, mais il est possible que des cacaoyers aient déjà été cultivés dans la région sud-ouest du pays avant la colonisation espagnole (PITTIER, 1933 ; BERGMAN, 1969). Vers 1750, les Français ont planté des cacaoyers à la Martinique et en Haïti et les Portugais à Belém et à Bahia.

Les cacaoyers ont gagné l'Asie et le Pacifique dès 1560 (WOOD, 1991 ; YOUNG, 1994). A cette époque, des Criollo du Venezuela ont été introduits dans l'île de Célèbes puis à Java, par les Hollandais. En 1614, des Criollo provenant du Mexique ont été implantés aux Philippines par les Espagnols. En 1798, la culture du cacaoyer a gagné Madras, en Inde, à partir de l'île d'Amboine, et Ceylan, à partir de la Trinité, grâce aux Anglais. De Ceylan, le cacaoyer a été introduit à Singapour et aux Fidji, en 1880, aux Samoa, en 1883, dans le Queensland, en 1886, à Bombay et à Zanzibar, en 1887. Le cacaoyer était cultivé en Malaisie dès 1778 et à Hawaii en 1831.

Son introduction en Afrique est plus récente. Les navigateurs espagnols ou portugais l'ont importé dans l'île de São Tomé, en 1822, puis dans l'île de Fernando Poo, en 1855 (BURLE, 1952). D'autres introductions ont été réalisées ensuite par des missionnaires suisses à partir du Surinam. Les premières graines de cacaoyer ont été semées sur le continent africain en 1857. Les premiers cacaoyers répandus en Afrique de l'Ouest à partir du Ghana étaient originaires de basse Amazonie (Forastero Amelonado) puis, en 1920, des formes hybrides Trinitario et des Criollo ont été importés et se sont hybridés avec les Amelonado locaux (TOXOPEUS, 1985). Chacun de ces transferts était effectué avec un nombre très restreint de génotypes, en conséquence la base génétique des cacaoyers initialement cultivés en Afrique de l'Ouest est très étroite et leur origine, imprécise.

La technique de fabrication du chocolat s'est perfectionnée avec l'invention en 1828 des presses pour extraire le beurre de cacao, ce qui a permis d'améliorer la consistance du chocolat (ENRIQUEZ, 1985). La mise en œuvre de la fermentation et de la torréfaction des fèves a permis de développer l'arôme du chocolat à partir de n'importe quel cultivar de cacaoyer autre que les variétés de Criollo traditionnellement cultivées, qui, elles, nécessitent peu de fermentation.

Au début du siècle, près de 80 % de la production mondiale de cacao, soit 115 000 tonnes, était réalisée par l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud (BRAUDEAU, 1969). En 1997, la production atteignait près de 2,7 millions de tonnes. La Côte d'Ivoire est actuellement le premier producteur mondial avec 1,12 million de tonnes produites par an, viennent ensuite le Ghana et l'Indonésie, avec 330 000 tonnes chacun.

La taxonomie et les ressources génétiques

La taxonomie

Les cacaoyers appartiennent à la famille des sterculiacées et au genre *Theobroma*. *Theobroma cacao* L. (2n = 2x = 20) est un arbre originaire des régions tropicales humides du nord de l'Amérique du Sud et de l'Amérique centrale.

Bien que le premier foyer de domestication et de culture soit localisé en Amérique centrale, CHEESMAN (1944) considère que le centre d'origine du cacaoyer se situe dans le cours supérieur de l'Amazone, près des Andes équatoriennes. C'est en effet dans cette région que POUND (1938) a observé la plus forte variabilité morphologique. Les cacaoyers ont un petit génome dont la taille a été estimée à 0,4 picogramme par génome haploïde (FIGUEIRA *et al.*, 1992 ; LANAUD *et al.*, 1992).

La taxonomie du genre *Theobroma* a été étudiée par les botanistes dès la fin du XIXe siècle (BERNOULLI, 1869 ; SCHUMANN, 1886 ; PITTIER, 1930 ; CHEVALIER, 1946). L'étude la plus récente et la plus complète est celle de CUATRECASAS (1964), qui divise le genre *Theobroma* en 6 sections et 22 espèces, qui se répartissent sur le continent américain entre 18° de latitude nord et 15° de latitude sud. L'une des sections est constituée par la seule espèce *T. cacao.* La classification proposée par cet auteur est fondée sur le mode de germination, l'architecture des arbres et les caractères des fruits et des fleurs. Parmi toutes ces espèces, seule *T. cacao* a une importance économique. *T. grandiflora,* le cupuassu, est cependant aussi exploitée au Brésil, la pulpe de ses fruits entrant dans la fabrication de boissons et de sorbets.

L'espèce *T. cacao* se compose d'un grand nombre de populations interfertiles, très variables sur le plan morphologique. Les plantes sont autogames ou allogames en fonction de leur origine génétique. Un système d'auto-incompatibilité gamétosporophytique renforce l'allogamie dans certaines populations (KNIGHT et ROGERS, 1955 ; BOUHARMONT, 1960 ; COPE, 1962 ; GLENDINNING, 1966).

Les classifications proposées pour l'espèce *T. cacao* n'ont jamais été pleinement satisfaisantes. Elles sont trop souvent schématiques étant donné l'intense brassage génétique entre populations d'origine génétique différente. MORRIS (1882) a été le premier à proposer une classification des cacaoyers en deux groupes : Criollo et Forastero[1]. PITTIER (1930) a fait de chaque groupe une espèce : *T. leiocarpum,* pour les Forastero, et *T. cacao,* pour les Criollo. CUATRECASAS (1964) les a considérés comme deux sous-espèces : *T. cacao* subsp. *cacao,* pour les Criollo, et *T. cacao* subsp. *sphaerocarpum,* pour les Forastero. Actuellement, une classification en deux groupes morphogéographiques, les Criollo et les Forastero, est admise. Un troisième groupe, les Trinitario, rassemble les formes hybrides entre les deux premiers.

1. Les termes Criollo et Forastero viennent du vocabulaire vénézuélien, qui distinguait les cacaoyers locaux traditionnellement cultivés, les Criollo, des cacaoyers étrangers, les Forastero, aussi appelés Trinitario, introduits plus tardivement à partir de la Trinité. Ainsi, à l'origine, le terme Forastero était relatif à toutes les variétés différentes des Criollo. Par extension, le terme Criollo, associé à un cacao de haute qualité issu de fèves épaisses, claires et aromatiques, a été utilisé pour désigner des cacaos de même qualité provenant d'autres pays comme le Nicaragua et le Mexique.

Les Forastero

Le groupe des Forastero rassemble un grand nombre de populations sauvages et de variétés cultivées originaires d'Amérique du Sud. Les cacaoyers de ce groupe se rencontrent de l'Equateur jusqu'aux Guyanes. Ce sont des arbres vigoureux qui présentent de nombreuses résistances aux maladies. Leurs fèves, généralement violettes et aplaties, mais parfois blanches et bombées dans certaines populations, donnent un cacao de qualité moyenne à bonne. Les variétés de type Nacional, originaires d'Equateur, dont la classification dans ce groupe est actuellement remise en question (Enriquez, 1992), produisent un cacao fin, aromatique, très recherché par les chocolatiers.

Les Forastero du Brésil et du Venezuela

Les Forastero de basse Amazonie et de la vallée de l'Orénoque sont largement cultivés dans tout le bassin amazonien. La forme la plus typique en est l'Amelonado. C'est ce type de cacaoyer, autocompatible, qui a été tout d'abord introduit en Afrique. De nombreuses prospections réalisées dans le bassin amazonien au Brésil ont montré une forte diversité morphologique (Barriga *et al.*, 1984).

Les Forastero du Pérou, d'Equateur et de Colombie

C'est au cours de plusieurs expéditions à la recherche de génotypes résistants au balai de sorcière, maladie due au champignon *Crinipellis perniciosa,* que Pound (1938 ; 1943) a décrit pour la première fois les populations du Pérou et de l'Equateur. Celles-ci présentent une forte diversité morphologique, avec des cabosses de forme et de couleur variables, vertes ou vert pâle ou légèrement pigmentées dans les zones proches de la Colombie. Des prospections plus récentes en haute Amazonie et, en particulier, à l'est de l'Equateur (Allen et Lass, 1983) ont mis en évidence des populations indigènes et sauvages de cacaoyers. Contrairement aux observations de Pound au Pérou, toutes les populations de l'est de l'Equateur apparaissent morphologiquement assez semblables. Elles se caractérisent par des arbres de grande taille, aux jeunes feuilles vert pâle et aux cabosses vertes et rugueuses contenant une forte proportion de fèves blanches. Ces cacaoyers ont des caractéristiques communes avec les variétés de Criollo d'Amérique centrale ou d'Amérique du Sud, toutefois, les cabosses des Criollo peuvent être plus allongées et complètement rouges, contrairement aux cabosses des cacaoyers équatoriens, qui ne sont que parfois légèrement pigmentées.

On trouve aussi en Equateur des formes hybrides, en particulier, les Refractario. Ce sont des descendants d'une introduction de Trinitario effectuée en Equateur vers 1890 à partir de quelques cabosses venant de la Trinité. Ce matériel particulièrement vigoureux et précoce, même sur des sols pauvres, a été utilisé par la plupart des planteurs. Un large brassage génétique s'est alors établi entre les différentes origines. A l'arrivée de la maladie du balai de sorcière, qui s'est répandue dans presque tous les districts en provoquant de

lourdes pertes de production dès les années 20-30, quelques arbres, appelés Refractario, sont apparus plus tolérants. Des replantations ont alors été réalisées à partir d'un faible pourcentage de semences issues de ces arbres rescapés.

Les Forastero des Guyanes

Les premières observations de cacaoyers sauvages au Surinam ont révélé des populations très homogènes pour la forme de leurs cabosses, de type Amelonado, et distinctes des types cultivés dans la région (Myers, 1930). Des cacaoyers spontanés avaient été observés dans le sud-est de la Guyane française dès 1729 (Lecomte et Challot, 1897). Des prospections organisées en Guyane française ont mis en évidence certaines populations, en particulier celles du haut Camopi, qui présentent une variabilité phénotypique importante (Sallee, 1987). Ces populations se distinguent des Forastero bas-amazoniens par leurs cabosses, dont la forme va de celle de l'Amelonado à celle de l'Angoleta, avec une verrucosité plus ou moins marquée et une taille moyenne à élevée (Lachenaud et Sallee, 1993). L'origine des types cultivés en Guyane est incertaine. Ils proviendraient, selon Guisan (1825), des forêts de cacaoyers naturels situées au-dessus du Camopi.

Les Criollo

Les Criollo ont été les premiers cacaoyers domestiqués par les civilisations mayas et aztèques. Ce sont les seules variétés qui ont été cultivées dans toute l'Amérique centrale et dans le nord de l'Amérique du Sud jusqu'au XVIIIe siècle.

Les Criollo, autocompatibles, se rencontrent du Mexique jusqu'en Colombie et au Venezuela sous forme cultivée ou subspontanée (Soria, 1973 ; Reyes, 1992). Ils ont une croissance lente, sont plus sensibles aux maladies et aux insectes que les Forastero et manifestent une forte diversité morphologique (Soria, 1970a ; 1970b). Leurs fruits sont allongés, avec une pointe acuminée, une surface lisse ou rugueuse, rouge ou verte avant maturité, et un cortex peu lignifié. Leurs fèves sont de taille variable mais, le plus souvent, grandes et épaisses et de couleur blanche ou rosée. Les fèves de Criollo sont généralement bombées et non aplaties, contrairement à celles des Forastero de basse Amazonie et du Pérou. Ces caractéristiques des fèves, associées à une moindre lignification du cortex, sont habituellement utilisées pour classer les clones de cacaoyer dans le groupe des Criollo. Les formes cultivées de Criollo varient depuis un type à cabosse lisse, comme le Porcelana du Venezuela, jusqu'au type Cundeamor, à cabosses très verruqueuses, trouvé au Mexique, en Colombie et au Venezuela. Une forme particulière, le Pentagona, se rencontre dans les anciennes plantations du Mexique, du Guatemala, du Nicaragua et du Venezuela.

Outre quelques variétés traditionnelles de Criollo présentes dans les collections, des types Criollo plus vigoureux et productifs ont été collectés dans les

plantations des dernières décennies. Ce sont ces clones de Criollo, représentant en général ce groupe génétique dans les collections, qui seront appelés « Criollo actuels » dans la suite de cette étude.

Les Trinitario

Les Trinitario regroupent toutes les formes hybrides entre Criollo et Forastero de basse Amazonie ou de la vallée de l'Orénoque, qui sont à l'origine de ces variétés. Les Trinitario auraient été cultivés tout d'abord à la Trinité, puis au Venezuela et en Amérique centrale, où ils se seraient mélangés aux Criollo dans les plantations traditionnelles.

Les ressources génétiques

Une quarantaine de prospections ont été réalisées depuis 1930. Elles ont principalement porté sur les Forastero du Pérou, du Brésil, d'Equateur, de Colombie, du Venezuela et de Guyane et, plus récemment, sur les Criollo d'Amérique centrale, du Venezuela et de Colombie.

Les collections les plus importantes issues de ces prospections sont conservées à la CRU, Cocoa Research Unit, à la Trinité (2 500 génotypes), à la CEPLAC, Comissão Executiva do Plano de Lavoura Cacaueira, au Brésil (2 000 génotypes originaux) et au CATIE, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, au Costa Rica (700 génotypes). Chacune des collections a sa spécificité : celle de la Trinité est riche en Forastero de haute Amazonie, celle du Brésil regroupe le matériel provenant des prospections de la région amazonienne du Brésil et des variétés cultivées à Bahia, celle du CATIE rassemble surtout des Trinitario et des Criollo. La collection du Cirad en Guyane française contient les descendants d'environ 200 pieds mères spontanés collectés dans ce pays.

Les échanges internationaux de matériel végétal sont soumis à une quarantaine de deux ans afin de dépister les maladies virales et fongiques. Trois stations de quarantaine sont opérationnelles : celle de l'université de Reading, au Royaume-Uni, celle du Cirad, en France, et celle de la CRU, à la Barbade.

Une base de données internationale a été constituée au début des années 90. Elle rassemble des informations sur plus de 14 000 génotypes conservés dans 43 collections et fait l'objet d'une actualisation régulière (End *et al.*, 1992). Une autre base de données, Tropgène-db, actuellement mise en place au Cirad, regroupe les données agronomiques et moléculaires de près de 400 génotypes.

L'amélioration génétique du cacaoyer, ciblée sur des objectifs différents selon les pays — qualité, production, résistance —, repose toujours sur la création d'hybrides entre géniteurs appartenant à des populations différentes. Comme il est difficile d'établir clairement une classification uniquement sur la base de

caractères morphologiques, nous avons développé l'utilisation de marqueurs biochimiques et moléculaires pour préciser l'organisation génétique de l'espèce et pour étudier les processus de domestication.

L'organisation de la diversité génétique

La diversité morphologique

Plusieurs auteurs ont tenté de définir les descripteurs morphologiques les plus discriminants qui prennent en compte la variance intra et interclonale (ENRIQUEZ et SORIA, 1968 ; ENGELS *et al.*, 1980 ; SORIA et ENRIQUEZ, 1981 ; ENGELS, 1983a ; 1983b ; BEKELE, 1992 ; BEKELE *et al.*, 1994 ; RABOIN et PAULIN, 1993). L'IBPGR (1981) a publié une liste de 65 descripteurs morphologiques pour caractériser les ressources génétiques du cacaoyer. Cependant, afin de réduire le temps nécessaire à la caractérisation dans les études portant sur un grand nombre de génotypes, cette liste a souvent été écourtée.

Ainsi, ENGELS (1986) a étudié la diversité de 294 clones de la collection du CATIE à l'aide de 39 descripteurs qualitatifs et quantitatifs portant sur la morphologie des fleurs, des feuilles et des fruits. Cette analyse met en évidence une structuration entre les types Criollo et Forastero ainsi qu'une diversité importante dans chacun de ces groupes. Dans cette analyse, les Trinitario se regroupent avec les Criollo.

N'GORAN (1994) a analysé la diversité de 52 clones appartenant aux groupes Forastero, Criollo et Trinitario pour 9 caractères des fèves et des cabosses. Cette analyse a confirmé la structuration observée par Engels, avec une différenciation entre les Forastero, d'une part, les Criollo et Trinitario, d'autre part.

Une étude plus récente (BEKELE et BEKELE, 1998), réalisée sur 100 clones issus de 24 populations, met en évidence une structuration des populations en fonction de leur origine géographique.

L'ensemble de ces études montre que les marqueurs morphologiques permettent de structurer globalement la diversité des différentes populations de cacaoyers en collection. Ils sont accessibles à tous, mais leur coût en temps et leur variabilité en fonction de l'environnement rendent leur utilisation souvent délicate.

La diversité enzymatique

La diversité enzymatique de clones ou de populations de cacaoyers a été évaluée par plusieurs auteurs (LANAUD et BERTHAUD, 1984 ; LANAUD, 1986a ;

1986b ; 1987 ; AMEFIA, 1986 ; ATKINSON *et al.*, 1986 ; YIDANA *et al.*, 1987 ; RONNING et SCHNELL, 1994 ; WARREN, 1994 ; SOUNIGO *et al.*, 1996).

LANAUD (1987) a analysé la diversité de 296 génotypes à l'aide de 6 systèmes enzymatiques polymorphes représentant 9 locus. Sur l'ensemble des échantillons analysés, un total de 30 allèles a pu être identifié. A l'exception de *PAC1*, tous les allèles se retrouvent dans les populations originaires de haute Amazonie. *PAC1* est en revanche fréquent parmi les Criollo et les Trinitario. Un autre allèle, *MDHA1*, est lui aussi fréquent parmi les Criollo et les Trinitario et rare parmi les Forastero.

Les populations qui présentent le plus grand nombre d'allèles par locus sont celles de haute Amazonie, avec 1,8 à 2,2 allèles par locus. Les populations du Venezuela et de Guyane sont les moins variables avec de 1 à 1,5 allèles par locus. Le pourcentage de locus polymorphes est le plus élevé dans les populations de haute Amazonie, où il est supérieur à 50 %. L'hétérozygotie moyenne est la plus élevée parmi les Trinitario américains (0,36), les Criollo actuels (0,29) et les Refractario EQX d'Equateur (0,35). L'hétérozygotie est la plus faible pour les Amelonado africains (0,04), les Forastero de Guyane (0,06) et les deux populations du Venezuela analysées (0,1 et 0).

Cette variabilité des taux d'hétérozygotie au sein des populations de Forastero pourrait résulter du système de reproduction des arbres et de leur système d'auto-incompatibilité. En effet, les cacaoyers de haute Amazonie sont fortement auto-incompatibles et préférentiellement allogames, alors que les Forastero de basse Amazonie sont autocompatibles et donc préférentiellement autogames.

Une analyse factorielle des correspondances (AFC) a été réalisée à l'aide de 31 variables observées sur 286 individus. Aucune structuration nette entre Forastero et Criollo ou Trinitario n'apparaît sur le premier plan de l'AFC alors qu'une légère structuration est visible sur le plan 3-4. Les Forastero issus de haute Amazonie présentent la plus grande diversité génétique. Ceux d'Equateur sont aussi variables que ceux du Pérou, contrairement aux observations morphologiques de ALLEN et LASS (1983). Comparativement, la diversité des autres populations de Forastero analysées est plus réduite. Les Forastero cultivés en Guyane se différencient nettement des Forastero sauvages prospectés dans le sud de la Guyane sur le premier plan de l'AFC (figure 1). L'utilisation directe des cacaoyers spontanés locaux semble donc exclue pour expliquer l'origine des cacaoyers cultivés, dont la provenance demeure inconnue. Une origine vénézuélienne est cependant probable (LACHENAUD et SALLEE, 1993). La diversité de la population sauvage de Guyane est relativement faible compte tenu du grand nombre d'individus analysés (92). Les deux populations de Guyane, cultivée et sauvage, se différencient bien des Forastero bas-amazoniens (Amelonado) d'Afrique de l'Ouest et des populations de la vallée de l'Orénoque au Venezuela. Les cacaoyers guyanais cultivés sont cependant plus proches des Forastero du Venezuela. Sur le premier axe de l'AFC, les

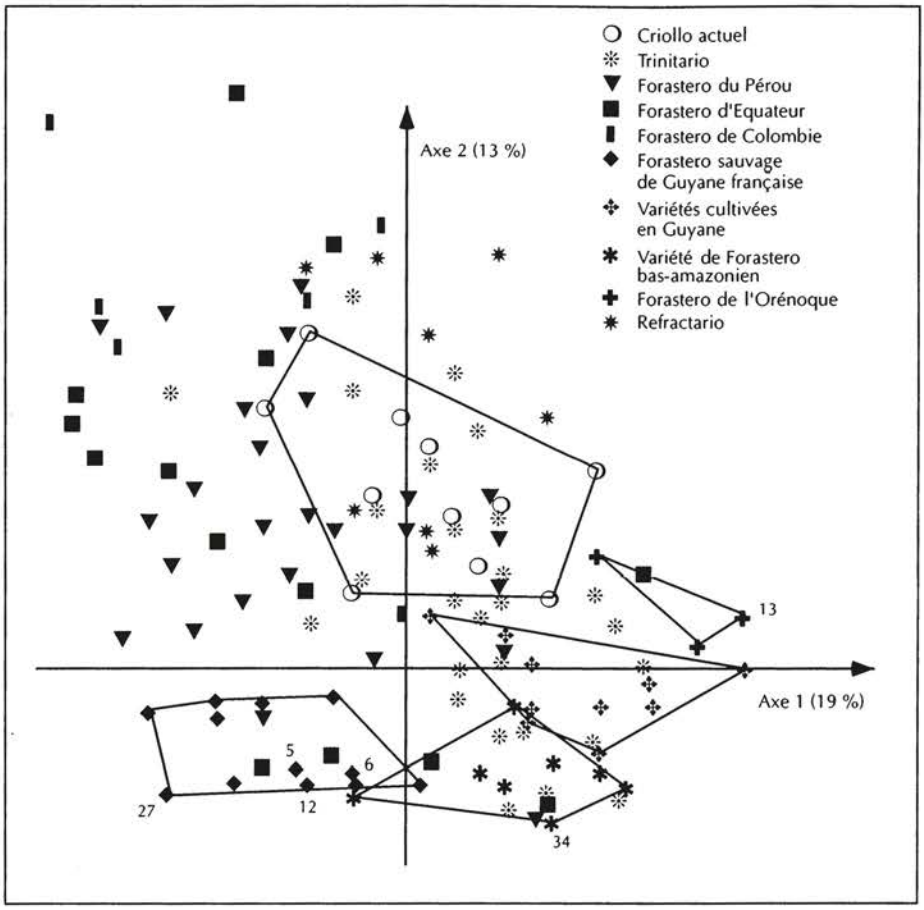

Figure 1. Premier plan de l'AFC de 296 individus analysés par isoenzymes, d'après LANAUD *(1987). Les chiffres notés sur la figure indiquent le nombre d'individus superposés sur un point donné.*

cacaoyers guyanais sauvages se rapprochent plus de certains Forastero du Pérou et d'Equateur que des Forastero du Venezuela et des formes cultivées de Guyane.

Il existe une grande proximité génétique entre les variétés cultivées actuelles de Criollo et les Trinitario cultivés en Amérique et en Afrique, ce qui s'explique facilement par les brassages génétiques importants qui existent dans les plantations. La variabilité des Trinitario cultivés en Afrique est très forte et s'étend des types Forastero Amelonado jusqu'aux Criollo. Cette situation est liée à l'histoire de l'introduction du cacaoyer en Afrique avec une première vague de Forastero Amelonado puis une deuxième vague de Trinitario. Les brassages génétiques qui se sont produits par la suite ont conduit à certains types hybrides plus proches des Forastero Amelonado.

A l'aide de 4 systèmes enzymatiques, WARREN (1994) a analysé la diversité de sept populations de Forastero de Colombie, d'Equateur et du Pérou et de deux populations de Trinitario, à raison de 10 individus par population. Il observe un grand nombre d'allèles pour le système PGI (10 allèles contre 5 dans l'étude de LANAUD, 1987). Les indices de diversité de Shannon indiquent une plus forte diversité dans les populations de Forastero d'Equateur que dans celles du Pérou. Les formes hybrides Trinitario apparaissent aussi variables. L'auteur en conclut que, s'il existe réellement un centre de diversité des cacaoyers sauvages, celui-ci doit se situer non pas au Pérou, comme le suggère CHEESMAN (1944), mais plus au nord, en Equateur et en Colombie.

RONNING et SCHNELL (1994) ont étudié la diversité enzymatique de 86 clones de cacaoyer issus des groupes Forastero, Criollo actuels, Trinitario et d'un groupe hybride non défini, à l'aide de 6 systèmes enzymatiques correspondant à 8 locus. Les fréquences allélliques et les distances génétiques obtenues confirment la différenciation entre Forastero et Criollo. Les valeurs des paramètres de diversité génétique sont globalement similaires à celles d'autres espèces ligneuses pérennes : $H_T = 0{,}295$, $H_S = 0{,}266$, $G_{ST} = 0{,}096$ (HAMRICK et GODT, 1990).

SOUNIGO *et al.* (1996) ont étudié la diversité enzymatique de 487 clones de cacaoyer appartenant à 28 populations ou groupes d'accessions présents dans la collection de la CRU à la Trinité, à l'aide de 5 systèmes enzymatiques polymorphes. L'analyse des paramètres de la diversité génétique montre des richesses alléliques et des hétérozygoties très variables. Certaines populations telles que les Forastero de Guyane et les Trinitario de la République dominicaine ou de la Martinique sont peu diversifiées, avec en moyenne de 1,3 à 1,8 allèles par locus et de 6 à 16 % d'hétérozygotie moyenne par locus et par individu. L'inverse est observé pour certaines populations hybrides de Trinitario et de Refractario, qui présentent 2,2 à 2,5 allèles par locus et 42 à 50 % d'hétérozygotie moyenne par locus et par individu. D'autres populations de Trinitario montrent une forte hétérozygotie mais un faible indice de diversité de Shannon ou de richesse allélique. En revanche, certaines populations de Forastero et de Refractario d'Equateur ont un faible niveau d'hétérozygotie mais une grande richesse allélique.

La faible diversité de certaines populations, telles que celles de la Martinique et de la République dominicaine, reflète l'homogénéité du matériel issu probablement d'un petit nombre d'introductions réalisées dans ces îles de la Caraïbe. A l'inverse, les valeurs de diversité élevées des Refractario témoignent bien de leurs origines multiples.

Estimées à partir de l'indice de diversité de Nei, la diversité moyenne intrapopulation, H_{pop}, est de 0,77 et la diversité interpopulation, de 0,23. Ainsi, les trois quarts de la diversité totale se situent au niveau intrapopulation. Ces résultats sont en accord avec ceux de RONNING et SCHNELL (1994) et de RUSSEL *et al.* (1993) ; ils sont caractéristiques des espèces pérennes allogames pour

lesquelles d'importants brassages génétiques ont lieu (HAMRICK *et al.*, 1992). La classification ascendante hiérarchique (CAH) fondée sur les distances génétiques de Nei est représentée sur la figure 2. Deux groupes majeurs sont observés à $d = 0,2$. L'un rassemble les populations de Refractario et de Trinitario ainsi que la population de Forastero IMC du Pérou. Ce groupe est lui-même structuré en deux sous-groupes : le premier comprend des Trinitario différenciés selon leur origine géographique, le second rassemble tous les Refractario ainsi que les populations IMC (Forastero), ICS et CC (Trinitario). L'autre groupe majeur réunit toutes les autres populations de Forastero, y compris celle des clones sauvages de Guyane, qui apparaît proche des populations MO et PA du Pérou. Dans cette analyse, la population des Scavina est proche de la population des Forastero d'Equateur LCTEEN.

Cette analyse, malgré le faible nombre de locus analysés, permet donc de révéler une structure globale, correspondant aux différents groupes génétiques, et une structuration géographique des populations à l'intérieur de certains groupes.

La diversité moléculaire

LE NIVEAU D'HÉTÉROZYGOTIE DES CLONES

Les pourcentages de locus hétérozygotes de 300 clones ont été évalués par RFLP après hybridation de 33 sondes génomiques et d'ADNc. Ces sondes ont été cartographiées sur la carte de référence (LANAUD *et al.*, 1995), ce qui a permis de connaître le déterminisme génétique des marqueurs utilisés.

Les clones dont le taux d'hétérozygotie est le plus élevé sont les Trinitario (86 % pour les clones UIT). Une forte hétérozygotie est aussi observée pour certaines variétés actuelles de Criollo (73 % pour CHO42), ainsi que chez certains Forastero de haute Amazonie tel IMC105 (42 %). Les niveaux les plus bas d'hétérozygotie se rencontrent dans des variétés anciennes de Criollo (Porcelana, 3 %) ou de Forastero bas-amazoniens (Pará, 4 %). Certains Forastero de Guyane (GU154), du Venezuela (VENC20), de Colombie (EBC5), du Pérou (P2) et de basse Amazonie (Catongo) sont totalement homozygotes.

Ces variations observées dans le niveau d'hétérozygotie des clones peuvent refléter soit le brassage génétique qui s'est produit entre populations d'origine différente, soit le mode de reproduction préférentiellement autogame ou allogame des cacaoyers.

LA DIVERSITÉ MOLÉCULAIRE RÉVÉLÉE PAR LES RFLP

La diversité moléculaire de populations de cacaoyers, révélée par RFLP au niveau nucléaire ou cytoplasmique, a été évaluée par plusieurs auteurs (LAURENT *et al.*, 1993a ; 1993b ; 1994 ; FIGUEIRA *et al.*, 1994 ; LERCETEAU *et al.*, 1997 ; MOTAMAYOR *et al.*, 1997).

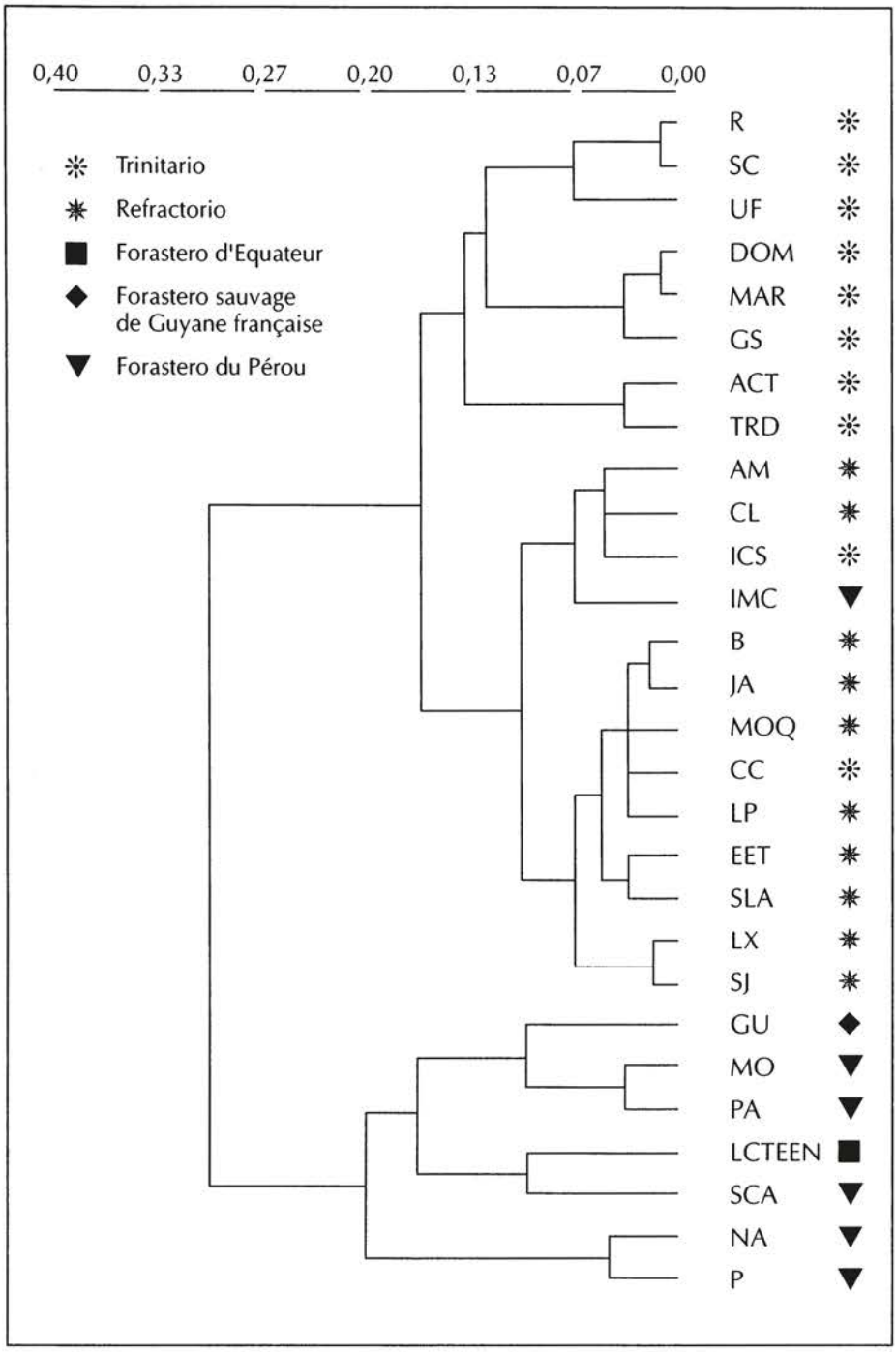

Figure 2. Arbre construit par la méthode du neighbor joining *à partir des distances de Nei non biaisées des différentes populations analysées à l'aide d'isoenzymes, d'après* Sounigo et al. *(1996).*

La diversité nucléaire

LAURENT *et al.* (1994) ont analysé 201 génotypes appartenant à différents groupes morphogéographiques. La diversité de l'ADN nucléaire total a été analysée à l'aide de 31 sondes d'ADNc qui ont permis de révéler 87 bandes polymorphes. Malgré une variation continue entre les groupes, due en particulier à un grand nombre d'hybrides Trinitario, une structuration assez claire apparaît sur l'axe 1 d'une AFC (figure 3) entre Forastero, d'une part, Criollo actuels et Trinitario, d'autre part. Les populations de Forastero haut-amazoniens et les variétés de Criollo sélectionnées présentent une grande variabilité. Les variétés de Criollo cultivées se superposent au pool des hybrides Trinitario.

Dans cette analyse, une différenciation marquée apparaît entre les Forastero sauvages de Guyane, d'une part, et les Forastero bas-amazoniens ou du Venezuela, d'autre part. Les Refractario se répartissent sur l'aire de distribution des Forastero. Les deux clones de Nacional sont proches de certains Refractario.

Une deuxième étude par RFLP a été centrée sur la diversité des formes de Criollo cultivées en Amérique centrale et au Venezuela (MOTAMAYOR *et al.*, 1997). Elle portait sur 208 génotypes, qui provenaient de collectes réalisées dans les plus anciennes plantations du Venezuela, sans tenir compte des critères agronomiques de production, dans la forêt Lacandona du Mexique, près de sites archéologiques mayas où l'on trouve des cacaoyers subspontanés qui sont probablement les descendants des cacaoyers anciennement cultivés par les Mayas, et dans le Yucatán. Ces collectes comprenaient des représentants des variétés pures de Criollo anciennement cultivées, qui présentent des formes de cabosse variées : ovale et lisse, comme celle des Porcelana, ou très verruqueuse, telle celle des Pentagona. L'analyse de ce matériel a été complétée par celle de Trinitario, de Forastero et de variétés actuelles de Criollo présentes dans les collections du Venezuela, du Mexique et du Costa Rica.

Une cinquantaine de clones communs et une trentaine de sondes communes à l'étude précédente ont ensuite permis de comparer les résultats des deux types d'étude. Les fréquences alléliques de 26 locus cartographiés et l'hétérozygotie moyenne par locus pour chaque groupe montre un degré élevé de polymorphisme parmi les Forastero de haute Amazonie et les Trinitario. En effet, le plus grand nombre d'allèles par locus (2,2) est observé dans les groupes des Trinitario et des Forastero haut-amazoniens, de même, la plus forte valeur de diversité génétique de Nei (0,41) se retrouve dans le groupe des Trinitario. Des valeurs semblables de diversité génétique moyenne (0,37) sont relevées parmi les Forastero haut-amazoniens étudiés et le groupe de clones de Criollo actuellement cultivés. Cette diversité des formes actuelles de Criollo a été aussi signalée par d'autres auteurs (ENGELS, 1986 ; FIGUEIRA *et al.*, 1994 ; LAURENT *et al.*, 1994 ; LERCETEAU *et al.*, 1997).

Au contraire, les Criollo correspondant aux anciens types cultivés sont très peu polymorphes et montrent les plus faibles valeurs de diversité génétique (0,02). De même, ils présentent un faible niveau d'hétérozygotie moyenne par locus

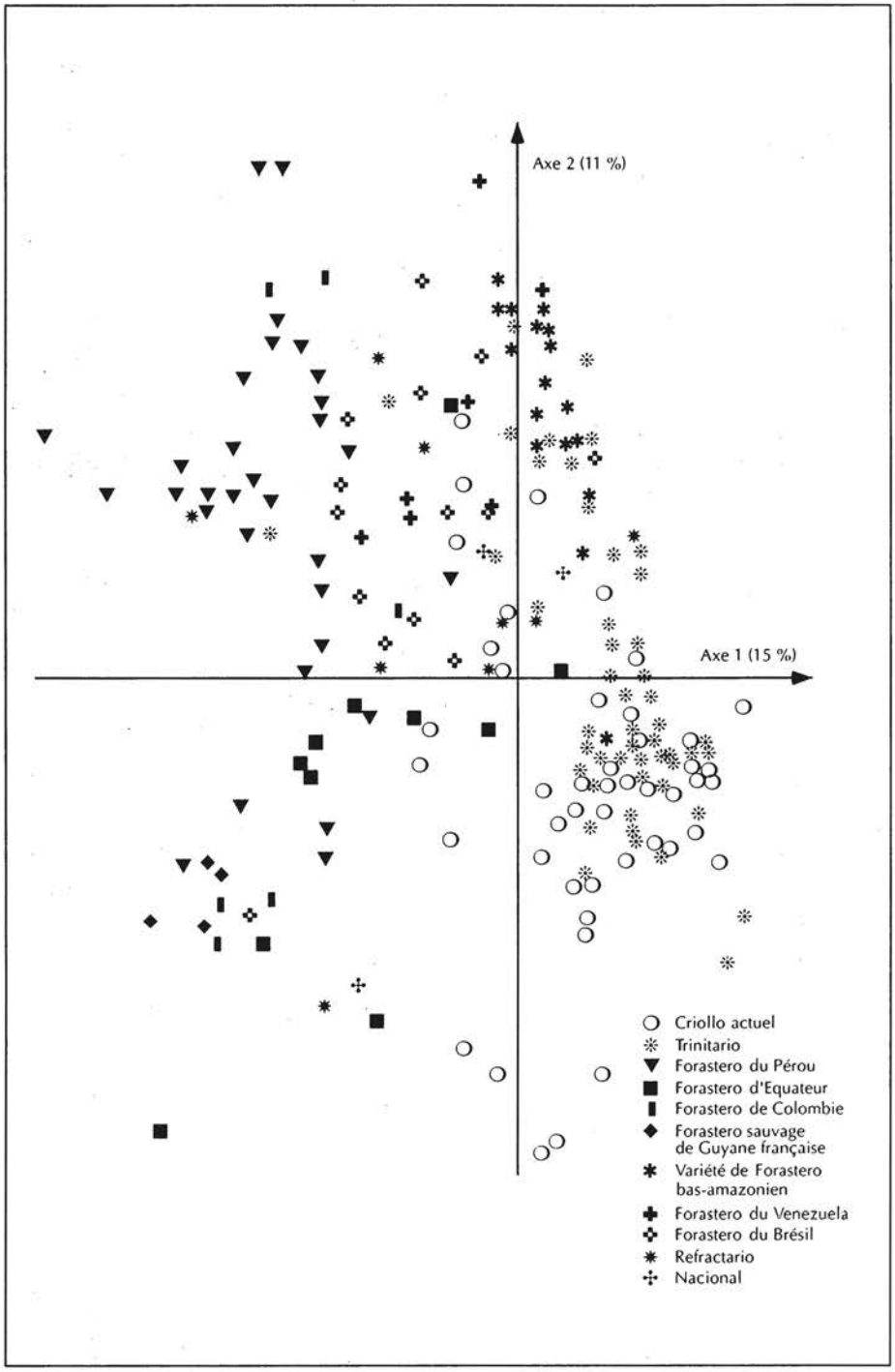

Figure 3. Premier plan de l'AFC de 201 individus étudiés pour leur diversité nucléaire à l'aide de 31 sondes d'ADNc, d'après LAURENT et al. *(1994).*

(0,02), contrairement aux variétés actuelles de Criollo (0,43) qui présentent avec les Trinitario (0,40) les valeurs les plus élevées. De plus, au sein de ces variétés anciennes, presque aucune différence génotypique n'a été trouvée entre des types morphologiques pourtant très contrastés tels que les Porcelana, les Pentagona et les Guasare du Venezuela ou les Criollo de la forêt Lacandona au Mexique.

Une AFC réalisée à partir de 64 bandes RFLP polymorphes révèle une différenciation très nette entre les Forastero et les variétés anciennes de Criollo (figure 4). Les Trinitario se superposent aux variétés actuelles de Criollo comme dans les analyses précédentes.

Les clones de Criollo actuels présents dans les collections apparaissent généralement plus hétérozygotes que les variétés anciennes, ce qui peut s'expliquer par une sélection de clones réalisée non seulement sur des caractères de qualité des fèves, mais aussi sur certains caractères agronomiques de vigueur, de production ou de résistance aux maladies. Ces types plus vigoureux pourraient correspondre à des formes plus ou moins hybrides résultant d'introgressions de gènes de Forastero dans les types de Criollo purs anciennement cultivés. La diversité observée parmi les variétés actuelles de Criollo pourrait s'expliquer à la fois par des introgressions de gènes de Forastero — plus ou moins importantes et portant sur différentes portions du génome — et par la diversité des Forastero à l'origine de ces introgressions.

Dans l'étude de Laurent *et al.* (1994), la diversité révélée sur le premier plan de l'AFC montrait une différenciation entre Forastero, d'une part, Criollo et Trinitario, d'autre part, le long de l'axe 1. Cependant, la variabilité apparaît identique pour ces deux groupes le long de l'axe 2, ce qui laisse penser que la variabilité des Forastero pour les caractères de l'axe 2 pourrait être à l'origine de la diversité révélée au sein des Criollo actuels et des Trinitario. Or, cette deuxième hypothèse semble pouvoir être écartée. En effet, dans l'étude de Motamayor *et al.* (1997), pour laquelle des sondes supplémentaires ont été utilisées, la diversité révélée par le premier plan de l'AFC se structure de façon différente. La diversité des Forastero ne peut expliquer celle des Criollo actuels et des Trinitario, et la majorité des clones de ces deux derniers groupes s'étale des Criollo anciens jusqu'aux variétés bas-amazoniennes. De plus, la nature très homozygote des anciennes variétés de Criollo, mise en évidence par les RFLP et par les microsatellites répartis sur tout le génome (Lanaud *et al.*, 1995 ; Risterucci *et al.*, 1996), permet de disposer d'un génotype de référence pour l'ensemble des chromosomes caractérisant les Criollo purs. L'observation d'une vingtaine de Trinitario et de variétés actuelles de Criollo à l'aide de 19 marqueurs microsatellites très polymorphes semble indiquer que le même génotype ou qu'une même population homogène de Forastero bas-amazoniens est à l'origine de la majorité des Trinitario (18 sur les 19 analysés). En effet, pour tous les locus, c'est toujours le même allèle Forastero, différent de l'allèle présent chez les Criollo anciens, qui est trouvé, alors que ces microsatellites révèlent une forte diversité allélique dans le groupe des Forastero. Il semble

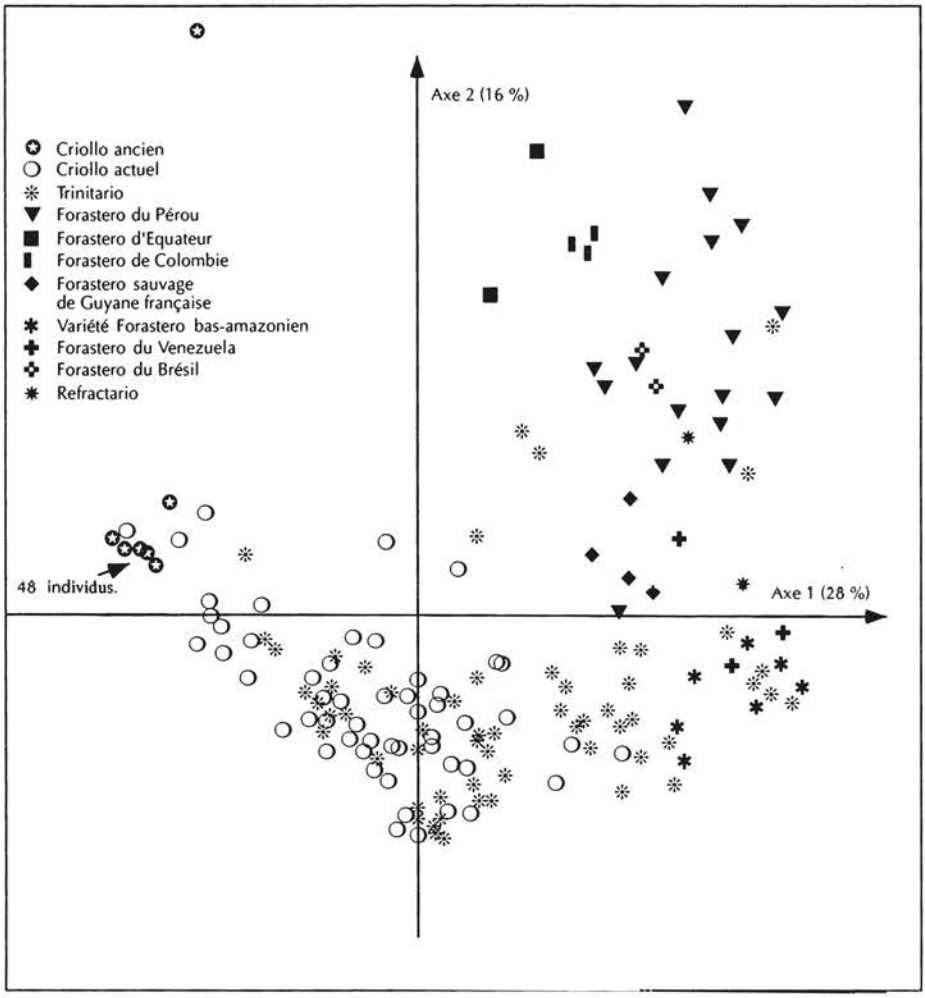

Figure 4. Premier plan de l'AFC de 208 individus comprenant des Criollo anciens et des variétés nouvelles de Criollo, étudiés pour leur diversité nucléaire à l'aide de 26 sondes RFLP nucléaires, d'après MOTAMAYOR et al. *(1997).*

donc d'après ces premiers résultats que ce serait plutôt les combinaisons différentes de parties du génome Forastero introgressées dans les Criollo purs qui seraient à l'origine de la variabilité observée au sein des Trinitario et des variétés modernes de Criollo. Les résultats de LAURENT *et al.* (1994), qui montrent une variabilité identique entre les groupes révélée par l'axe 2 de l'AFC, sont sans doute liés au faible polymorphisme révélé par les marqueurs RFLP qui, pour la plupart, ne présentent que deux allèles possibles, communs à tous les groupes. L'utilisation d'un plus grand nombre de marqueurs RFLP et de marqueurs plus polymorphes, comme les microsatellites qui ont révélé de nombreux allèles, nous a permis d'identifier les origines génétiques probables du

pool des Criollo actuels et des Trinitario. Ces résultats mettent donc en évidence une structure génétique très semblable entre ce qu'on appelle les Criollo, qui regroupent en majorité des Criollo actuels hybrides, et les Trinitario.

LERCETEAU *et al.* (1997) ont analysé la diversité génétique de 59 clones Nacional d'Equateur, mais aussi de 29 Forastero, de 29 Trinitario et de 9 variétés actuelles de Criollo. Quarante-trois sondes génomiques, codées en terme de locus, ont été utilisées. La diversité génétique intragroupe est identique pour les Forastero (0,33), les Trinitario (0,31) et les Criollo actuels (0,31). Elle est la plus faible chez les Nacional (0,19). L'hétérozygotie est la plus élevée chez les Trinitario et les Criollo, et la plus faible pour les Nacional. Parmi ceux-ci, certains génotypes prélevés dans de très vieilles plantations d'Equateur apparaissent presque totalement homozygotes.

Des CAH ont été réalisées à l'aide des distances de Rogers modifiées, calculées soit entre les groupes morphogéographiques, soit entre les origines géographiques seules des clones. La discrimination entre groupes est meilleure quand les clones sont classés en fonction de leur origine géographique (G_{ST} = 0,23 contre 0,16). En considérant les groupes morphogéographiques, les Criollo et les Trinitario sont les groupes les plus proches alors que les Nacional sont les plus distants de tous les autres groupes. Ces résultats confirment la spécificité génétique des Nacional et leur différenciation marquée par rapport aux Criollo.

Lorsque seule l'origine géographique des clones est prise en compte, les clones de Forastero guyanais apparaissent comme les plus éloignés de tous les autres, puis les clones d'Equateur se différencient de tous les autres groupes. La séparation des cacaoyers guyanais peut s'expliquer non seulement par la différenciation de cette population, mais aussi par le fait qu'aucun type hybride n'est inclus dans ce groupe, ce qui n'est pas le cas pour les autres groupes géographiques.

Le pourcentage de locus hétérozygotes des clones a été estimé sur la base de 31 sondes RFLP. Parmi les clones Nacional, on peut identifier deux groupes d'individus, BCH et SA, dont le taux d'homozygotie très élevé varie de 90 à 100 % et qui contiennent les mêmes allèles. Ces arbres proviennent de deux plantations qui datent d'une centaine d'années, situées à 450 kilomètres l'une de l'autre dans le nord et dans le sud de l'Equateur. Les Nacional constituent donc une population très hybride et, de façon identique à la genèse des Criollo actuels et des Trinitario, les clones BCH et SA, très homozygotes, pourraient représenter les ancêtres de cette population.

La diversité de l'ADN cytoplasmique

YEOH *et al.* (1990), dans une étude sur la structure du génome chloroplastique du cacaoyer, ont signalé la petite taille de ce génome, qui est de l'ordre de 100 10^3 bases.

La diversité cytoplasmique de 177 génotypes a été analysée au niveau mitochondrial et chloroplastique par LAURENT *et al.* (1993b) à l'aide de sondes hétérologues mitochondriales (ATP-synthétase de tournesol, cytochrome-oxydase de blé) et chloroplastiques (Rubisco d'épinard).

Deux profils chloroplastiques, A et B, ont été observés. Soixante-dix pour-cent des clones ont le profil A et appartiennent à tous les groupes morphogéographiques. Les clones ayant le profil B sont en majorité des Criollo actuels, des Trinitario et quelques Forastero de basse Amazonie, de Colombie et du Pérou (Scavina).

Les sondes mitochondriales ont permis de révéler 44 profils mitochondriaux, dont 35 ne regroupent pas plus de 5 clones. Ces types très variables et mineurs sont essentiellement constitués de Criollo et Trinitario. Parmi les 9 types restants, le type 1 regroupe les deux tiers des clones de Forastero, incluant des génotypes de Guyane, du Venezuela, du Brésil, du Pérou, de Colombie et d'Equateur. L'autre type majoritaire, le type 2, regroupe une majorité de Criollo et Trinitario (26 clones) et quelques génotypes bas-amazoniens. Une AFC permet de visualiser la diversité de l'ADN mitochondrial des clones étudiés (figure 5). Il est intéressant de constater que, contrairement à l'ADN nucléaire, la diversité de l'ADN mitochondrial est beaucoup plus importante chez les variétés actuelles de Criollo que chez les Forastero, qui apparaissent assez peu variables. Récemment, ce polymorphisme mitochondrial a été mis en évidence également parmi le pool de Criollo anciens du Mexique et du Venezuela, qui présentent par ailleurs une homozygotie quasi totale au niveau nucléaire.

LA DIVERSITÉ MOLÉCULAIRE RÉVÉLÉE PAR LES RAPD

La facilité d'accès aux marqueurs RAPD a permis à de nombreux auteurs de les utiliser pour identifier ou pour étudier la diversité des cacaoyers (WILDE *et al.*, 1992 ; RUSSEL *et al.*, 1993 ; FIGUEIRA *et al.*, 1994 ; N'GORAN *et al.*, 1994 ; RONNING et SCHNELL, 1994 ; DE LA CRUZ *et al.*, 1995 ; RONNING *et al.*, 1995 ; SOUNIGO *et al.*, 1996 ; LERCETEAU *et al.*, 1997 ; WHITKUS *et al.*, 1998).

FIGUEIRA *et al.* (1994) ont analysé la diversité de génotypes appartenant aux trois groupes, Criollo, Trinitario et Forastero, à l'aide de 128 marqueurs RAPD correspondant à des fragments amplifiés provenant de 23 amorces. Ils ont observé une variation continue entre ces groupes, sans pouvoir les différencier. En revanche, ils ont constaté une structuration assez nette entre clones sauvages et clones cultivés. Cette structuration est confirmée par l'analyse de l'ADN ribosomique. Ces résultats amènent ces auteurs à proposer une nouvelle classification des cacaoyers qui s'appuie non pas sur les trois groupes traditionnels, Criollo, Trinitario et Forastero, mais sur les groupes « cacaoyers sauvages » et « cacaoyers cultivés ».

Dans le même temps, RUSSEL *et al.* (1993) ont étudié la diversité de 25 clones issus de trois populations de Forastero du Pérou et d'Equateur à l'aide de

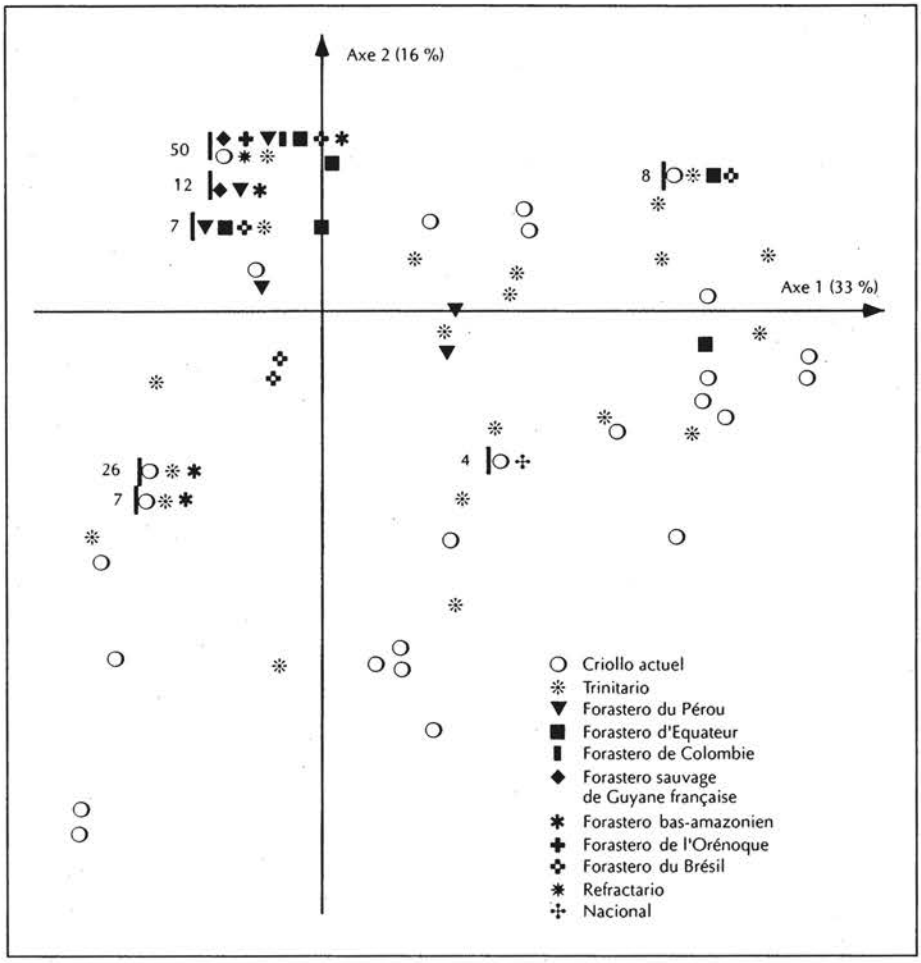

Figure 5. Diversité de l'ADN mitochondrial de 177 individus appartenant aux différents groupes morphogéographiques et représentée sur le premier plan d'une AFC, d'après LAURENT et al. *(1993b).*

9 amorces RAPD ayant généré 75 bandes. Malgré l'échantillonnage réduit, les indices de diversité de Shannon révèlent une diversité intrapopulation supérieure à la diversité interpopulation. Les analyses multivariées, AFC et CAH, révèlent une différenciation génétique entre les trois populations de Forastero haut-amazoniens en relation avec leur origine géographique.

N'GORAN *et al.* (1994) ont analysé la diversité génétique de 106 génotypes qui appartiennent aux différents groupes morphogéographiques incluant des variétés actuelles de Criollo, à l'aide de 19 amorces. Après un tri sévère des bandes, 49 bandes polymorphes et reproductibles ont été retenues pour les analyses. Sur 36 bandes hybridées à de l'ADN total restreint, 12 correspondent à des séquences hautement répétées et dispersées, 12, à des séquences

uniques et 12, à des séquences faiblement répétées. La CAH, établie à partir des coordonnées factorielles d'une AFC (figure 6), montre une structuration claire sur le premier plan entre Forastero et Criollo actuels, ainsi qu'une différenciation nette entre Forastero haut-amazoniens et Forastero bas-amazoniens (N'GORAN *et al.*, 1994). Si l'on ne considère que les bandes correspondant aux séquences uniques, aucune structuration claire n'apparaît. En revanche, une structuration apparaît entre Criollo actuels et Forastero en ne considérant que les bandes correspondant aux séquences hautement répétées alors qu'elles ne différencient pas du tout les Forastero bas-amazoniens des Forastero haut-amazoniens.

LERCETEAU *et al.* (1997) ont étudié la diversité de 155 clones appartenant aux groupes Nacional, Forastero, Trinitario et Criollo actuels, à l'aide de 40 bandes RAPD issues de 18 amorces. Une analyse en composantes principales (ACP) a permis de structurer la diversité. L'axe 2 met en évidence essentiellement la spécificité des Forastero sauvages de Guyane, tandis que le plan 1-3 révèle la structuration des autres populations. Malgré les variations continues d'un groupe à l'autre, dues aux brassages génétiques intenses, on observe une différenciation claire entre Nacional et Criollo. La mise en évidence de cette structuration ainsi que l'information apportée par les RFLP sur ces mêmes clones amènent les auteurs à penser que les clones de Nacional très homozygotes tels que les BCH et SA, issus de très vieilles plantations, pourraient représenter une partie du pool originel des Nacional. Ces clones se seraient ensuite largement hybridés avec d'autres clones introduits. Ce niveau d'homozygotie élevé pourrait être un caractère commun aux variétés pures de Nacional.

SOUNIGO *et al.* (1996) ont analysé par RAPD la diversité de 149 clones appartenant aux groupes Forastero, Trinitario et Refractario. Le calcul de l'indice de diversité de Shannon montre que les populations les plus variables sont LCTEEN (Forastero d'Equateur, 0,85), IMC (Forastero du Pérou, 0,72) et CL (Refractario, 0,71) et les moins variables sont les populations B, JA (Refractario, 0,29 et 0,47), NA (Forastero du Pérou, 0,42) et GU (Forastero de Guyane, 0,50). Un arbre additif construit à partir des distances de Rogers montre une structuration des populations en trois groupes. Le premier rassemble les trois populations du Pérou, NA, IMC, SCA. Le deuxième associe les populations de Forastero, PA et MO du Pérou, LCTEEN d'Equateur et GU de Guyane. Le troisième regroupe les populations de Refractario et de Trinitario.

Dans cette analyse à l'aide des RAPD, les populations de Forastero se regroupent de manière différente de celle qui est observée avec les marqueurs enzymatiques. En particulier, la population IMC est proche des autres populations de Forastero, alors qu'elle était associée à des Trinitario dans l'analyse isoenzymatique. La population SCA apparaît plus proche des IMC et des NA du Pérou, alors que, avec les isoenzymes, elle était plus proche de la population d'Equateur LCTEEN. La population de cacaoyers guyanais sauvages apparaît la plus distante de toutes les autres populations (figure 7), alors qu'avec les isoenzymes elle était assez proche des populations MO et NA.

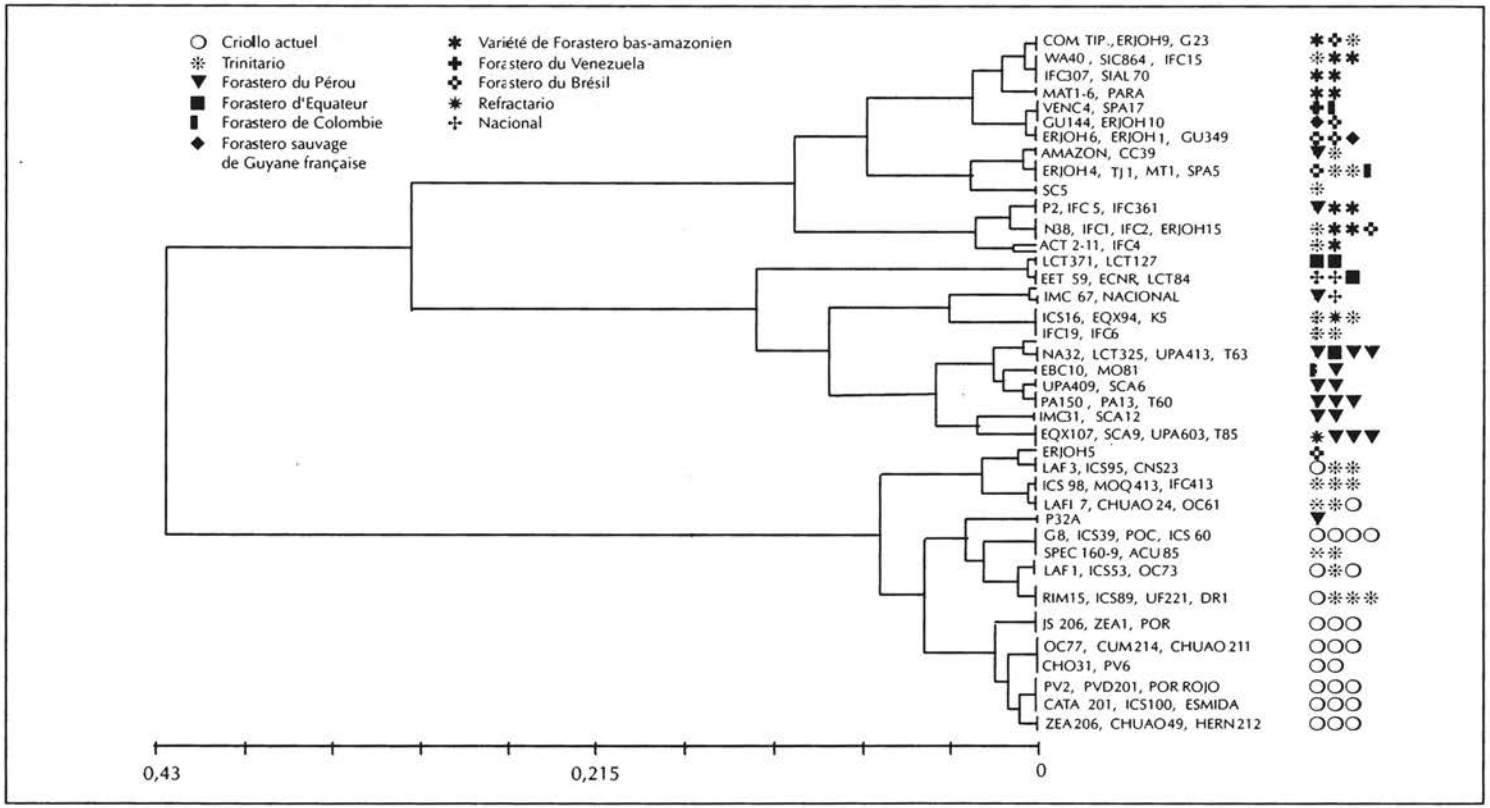

Figure 6. Analyse ascendante hiérarchique construite par la méthode du neighbor joining *à partir des coordonnées des individus sur les sept premiers axes de l'AFC, d'après N'GORAN* et al. *(1994). La diversité des individus a été évaluée à l'aide de 49 bandes RAPD polymorphes.*

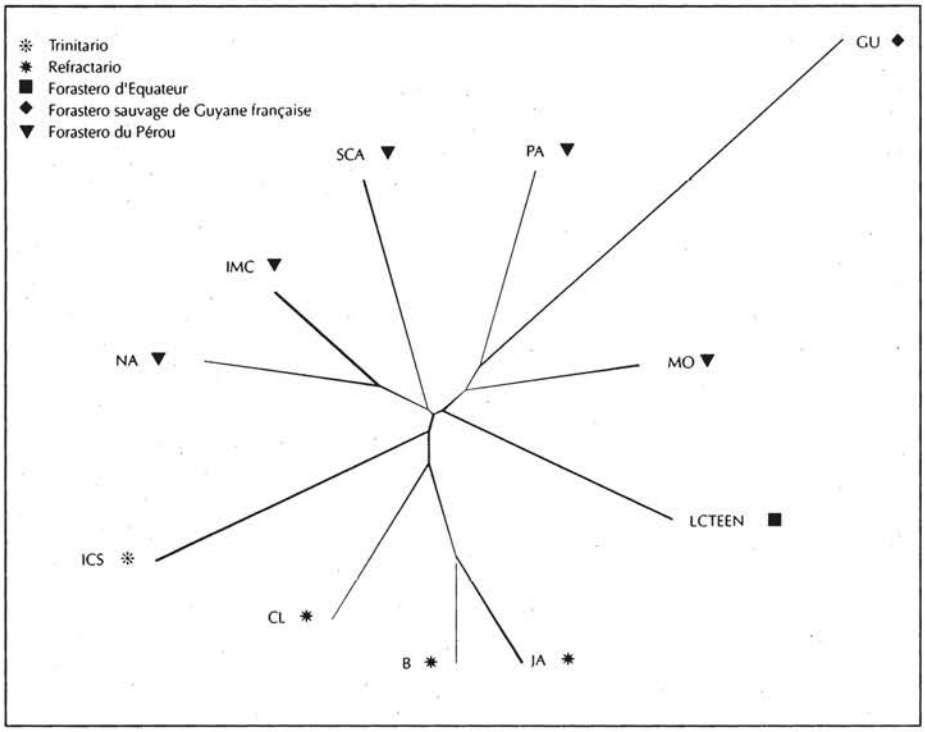

Figure 7. Arbre construit par la méthode du neighbor joining *à partir des distances de Rogers obtenues sur les données RAPD de* Sounigo et al. *(1996).*

De la Cruz *et al.* (1995) ont analysé à l'aide des RAPD 42 génotypes correspondant à des plantes sauvages, provenant soit du Mexique (îlots forestiers du Yucatán et du Chiapas), soit de haute Amazonie, à des cultivars de Criollo, de Forastero et de Trinitario, et à un représentant d'un genre voisin *Herrania*. Les calculs d'indices de dissimilarité ont permis de construire un arbre phylogénétique selon la méthode des plus proches voisins. Ils montrent une plus grande similarité entre les Criollo cultivés et les cacaoyers sauvages d'Amérique du Sud qu'entre les Criollo cultivés et les plantes sauvages du Mexique. Les auteurs suggèrent que les arbres sauvages trouvés dans les anciens bois sacrés des Mayas n'existent pas dans les collections actuelles et qu'ils pourraient être les représentants les plus proches des anciens cultivars mayas.

Dans une étude plus récente, Whitkus *et al.* (1998) ont analysé à l'aide de RAPD un échantillon de 86 individus, qui inclut, en particulier, 26 génotypes sauvages collectés dans la forêt Lacandona dans l'Etat du Chiapas et 5 individus provenant d'îlots forestiers du Yucatán, au Mexique, ainsi que des clones sauvages et cultivés d'Amérique centrale. Contrairement aux populations et aux cultivars d'Amérique centrale où la diversité intrapopulation est toujours plus élevée que la diversité interpopulation, la diversité trouvée entre les deux

populations mexicaines est plus élevée que celle de chaque région. Cette situation reflète le faible niveau de polymorphisme trouvé dans ces deux populations. Une structuration de la diversité semblable à celle de DE LA CRUZ *et al.* (1995) est observée. Les deux populations du Mexique apparaissent bien différenciées et originales. Ces résultats confortent l'hypothèse de CUATRECASAS (1964) quant à la répartition naturelle des cacaoyers en Amérique centrale. Les auteurs soulignent toutefois le manque d'affinité entre les Criollo cultivés et les plantes sauvages observées au Mexique. Selon eux, les cacaoyers collectés dans la forêt Lacandona pourraient représenter les cacaoyers sauvages. Les plants échantillonnés dans les îlots forestiers anciennement exploités par les Mayas pourraient en revanche y avoir été introduits à partir des populations sauvages. Dans ce cas, ils représenteraient un sous-échantillonnage des populations présentes dans la forêt Lacandona, ce qui expliquerait la différence entre les deux populations mexicaines. Ils correspondraient aussi au matériel le plus proche des cacaoyers cultivés par les Mayas.

Nos propres analyses, réalisées récemment à la fois sur la population de la forêt Lacandona et sur celle du Yucatán, indiquent, contrairement à WHITKUS *et al.* (1998), une parfaite similitude génétique entre ces deux populations. Cette contradiction trouve peut-être son origine dans le fait que les analyses de WHITKUS *et al.* (1998) ont probablement inclus dans leurs analyses de jeunes plants sauvages, morphologiquement très semblables à ceux de *T. cacao,* mais qui n'appartiennent pas à cette espèce. Ces plants, observés dans le Yucatán, pourraient expliquer les distances génétiques obtenues par WHITKUS *et al.* (1998) entre les cacaoyers issus des deux localités.

Conclusion

Les brassages génétiques intenses survenus au cours des trois derniers siècles entre les populations de cacaoyers sauvages et cultivés rendent souvent difficile leur classification.

Un certain nombre de descripteurs morphologiques permettent de différencier des populations d'origine géographique différente et de structurer leur diversité. Cependant, ils donnent parfois une image biaisée de la diversité des ressources génétiques. Ainsi au cours de nos analyses, il est apparu que les variétés anciennes de Criollo, très contrastées quant à leur morphologie, qui va du type Porcelana aux cabosses lisses au type Pentagona aux cabosses particulièrement verruqueuses, étaient très homogènes du point de vue génétique et trés homozygotes. La sélection humaine a pu dans ce cas participer à la fixation et à la conservation de types morphologiques très différents résultant de mutations ponctuelles.

Les marqueurs génétiques, qui reflètent la structure de l'ensemble du génome, sont des outils de choix pour révéler la diversité et les apparentements entre cacaoyers sauvages ou cultivés. Les différents types de marqueurs, nucléaires (RAPD, RFLP provenant de sondes génomiques ou d'ADNc, microsatellites) ou cytoplasmiques, apportent chacun des informations différentes et complémentaires en révélant la variation de séquences dont les vitesses d'évolution sont différentes. Les marqueurs codominants tels que les RFLP et les isoenzymes ont fourni une information plus précise sur la structure génétique des populations et des individus.

L'identification des allèles présents dans les génotypes ainsi que les gradients observés dans les niveaux d'hétérozygotie des clones au sein de populations cultivées hybrides telles que les Nacional d'Equateur ou les Criollo et les Trinitario ont permis de comprendre la genèse de ces populations et d'identifier leurs ancêtres les plus probables (LERCETEAU *et al.*, 1997 ; MOTAMAYOR *et al.*, 1997). Dans les deux cas, ces ancêtres sont probablement constitués par une base génétique très étroite.

Une forte diversité génétique a été mise en évidence entre les populations sauvages de Forastero et au sein de certaines de ces populations originaires de haute Amazonie, d'Equateur en particulier. Une variation continue peut être observée entre elles. Cependant, dans plusieurs analyses, les Forastero de Guyane apparaissent différenciés des autres types de Forastero, y compris des Forastero de basse Amazonie ou de l'Orénoque, dont ils sont les plus proches géographiquement. Une structuration entre Forastero et Criollo a été observée avec l'ensemble des marqueurs, avec une différenciation encore plus marquée entre Forastero et Criollo anciens révélée par les RFLP nucléaires. L'analyse des Nacional a aussi montré leur originalité à la fois par rapport aux Forastero et par rapport aux Criollo, dont ils se distinguent nettement.

Ainsi, la diversité de l'espèce pourrait se structurer, de façon schématique, autour de quatre pôles d'importance inégale : les Criollo anciens, les variétés pures de Nacional, les Forastero sauvages de Guyane et un pool plus large constitué des Forastero amazoniens (de haute et de basse Amazonie) et de l'Orénoque, même si ce pool comprend des populations qui se différencient les unes des autres selon leur origine géographique. Cette structuration diffère de la classification habituelle des cacaoyers en trois groupes : Forastero, Criollo et Trinitario. En effet, d'une part la structure génétique des Trinitario est semblable à celle du groupe des Criollo qui, dans cette classification, englobe une majorité de Criollo actuels. D'autre part, au sein du groupe appelé Forastero sont inclus des cacaoyers bien différenciés tels que les populations sauvages de Guyane ou ceux de la variété Nacional d'origine.

La structuration que nous proposons peut être étayée par l'histoire paléoclimatique du continent sud-américain à l'ère quaternaire, époque à laquelle des bouleversements écologiques considérables se sont produits. La succession de périodes de glaciation entrecoupées de phases de réchauffement du climat

s'est traduite, dans les régions tropicales, par une alternance de périodes sèches et de périodes humides. Durant les périodes de sécheresse, la forêt tropicale s'est rétrécie jusqu'à ne plus former que des îlots forestiers, favorisant ainsi la différenciation de populations et la disparition de certaines autres. Au cours des phases humides, les forêts se sont étendues de nouveau à partir de ces zones refuges. De telles zones refuges ont été identifiées en Guyane, au Brésil, en Colombie, au Venezuela ainsi qu'en haute Amazonie, où une vaste zone refuge a été mise en évidence. Ce phénomène, avéré pour de nombreuses espèces animales et végétales (Simpson et Haffer, 1978), pourrait expliquer la diversité et la différenciation de certaines populations de cacaoyers. L'étude moléculaire de la séquence de certains gènes devrait permettre d'affiner l'analyse des apparentements et de la différenciation entre populations et de dater leur temps de divergence ; il sera ainsi possible de situer la différenciation des populations par rapport aux grands événements écologiques et géographiques.

On peut souligner l'importance de l'échantillonnage dans les conclusions tirées des différentes analyses. En effet, les collectes de ressources génétiques ont souvent été réalisées avec des critères d'intérêt agronomique, qui peuvent donner une image biaisée de la diversité réellement présente dans une région donnée : c'est le cas des Forastero collectés au Pérou avec un objectif bien précis, celui de la résistance au balai de sorcière. Pour les Criollo, les premières études n'ont porté que sur les clones présents dans les collections et collectés aussi pour leurs caractères agronomiques. La forte diversité révélée au sein de ce groupe reflétait en fait la diversité des introgressions réalisées à partir d'un type unique, ancestral, identifié par la suite grâce aux marqueurs et aux prospections effectuées directement dans les plus vieilles plantations ou prés des vestiges des civilisations mayas, les premières à avoir domestiqué les cacaoyers. Un plus large échantillonnage et une meilleure représentation de certaines populations permettraient de conforter la structuration entre les différentes origines de cacaoyer qui est apparue dans ces analyses.

Ces analyses ont confirmé que seule une faible part de la diversité génétique est exploitée en sélection, comme l'ont mentionné plusieurs auteurs (Bartley, 1979 ; Lockwood et End, 1992). Ainsi, les formes hybrides entre Criollo et Forastero, qui correspondent le plus souvent aux formes traditionnelles de Trinitario, ont impliqué une base génétique très réduite dans chacun des deux groupes d'origine. D'autres types d'hybrides entre Criollo et Forastero exploitant toute la richesse génétique des Forastero pourraient donc être utilisés en sélection. Par ailleurs, peu de méioses séparent les Criollo anciens de la formation des types hybrides, et les déséquilibres de liaison entre caractères et marqueurs devraient être maintenus. Cette situation devrait faciliter l'exploitation des ressources génétiques de type Criollo et Trinitario en utilisant les marqueurs qui encadrent les gènes d'intérêt des Criollo comme marqueurs de sélection précoce. De même pour les Forastero, une très faible part de la diversité génétique a été réellement mise à contribution dans les programmes de

sélection, et un nombre réduit de Forastero du Pérou, ayant souvent des liens forts de parenté, ont été largement diffusés et intégrés dans les programmes de sélection de tous les pays producteurs.

Même si la diversité présente dans les collections est encore loin d'avoir été exploitée, l'importance de la diversité révélée sur un échantillon parfois restreint de certaines populations plaide en faveur de la poursuite des prospections dans les régions riches en diversité pour préserver les ressources génétiques des cacaoyers.

Annexe

Matériel végétal

Les analyses enzymatiques de LANAUD (1987) ont porté sur 12 Criollo actuels, 17 Trinitario sélectionnés en Amérique, 22 Trinitario sélectionnés en Afrique, 64 Forastero bas-amazoniens sélectionnés en Afrique, 19 Forastero prospectés par LANAUD (1986) le long de l'Orénoque au Venezuela (VENC), 92 Forastero sauvages prospectés par SALLEE (1987) en Guyane française, 19 cacaoyers cultivés prospectés par CLEMENT (1986) en Guyane française, 74 Forastero prospectés par POUND (1938 ; 1943) au Pérou (39 individus GO, 8 IMC, 11 P, 7 NA, 8 PA, 1 SCA), 10 Refractario collectés en Equateur par CHALMERS (1968) (6 individus EQX) et par POUND (1938) (4 individus MOQ), 7 Forastero prospectés lors de l'expédition colombienne d'OCAMPO (1985) en Colombie (EBC), 18 Forastero prospectés par J.B. Allen entre 1980 et 1985 en Equateur (LCTEEN).

Les analyses enzymatiques de SOUNIGO *et al.* (1996) ont porté sur 482 clones de cacaoyer appartenant à 28 populations ou groupes d'accessions présents dans la collection de la Trinité : 6 populations de Forastero prospectées au Pérou (IMC, MO, PA, NA, P, SCA : 112 individus), 1 population de Forastero provenant d'Equateur (LCTEEN : 16 individus), 1 population de Forastero prospectée en Guyane française (16 individus), 9 populations correspondant à des Refractario (AM, B, CL, JA, LP, LX, MOQ, SJ, SLA : 245 individus), 10 populations de Trinitario (ACT, CC, DOM, ICS, GS, MAR, R, SC, TRD, UF : 114 individus).

Les analyses par RFLP (LAURENT *et al.*, 1993b ; 1994) ont porté sur 201 génotypes appartenant aux différents groupes morphogéographiques : 45 Criollo actuels (ICS, CATA, BOC, CHUAO, OC, POR, JS, MT, PV, ZEA, LAF), 20 Forastero du Pérou (P, PA, NA, MO, IMC, SCA), 12 Forastero sélectionnés en Afrique à partir de clones du Pérou (T, UPA), 11 Forastero d'Equateur (LCTEEN), 6 Forastero de Colombie (EBC, SPA), 7 Forastero de la vallée de l'Orénoque au Venezuela (VENC), 4 Forastero sauvages de Guyane française (GU), 22 Forastero du Brésil (ERJOH, Comun, Pará, SIAL, SIC, MAT, Catongo), 9 Forastero bas-amazoniens et sélectionnés en Afrique (Amelonado) (IFC, SF), 37 Trinitario sélectionnés en Amérique du Centre et du Sud et dans la Caraïbe (ACT, ICS, GS, CHUAO, CNS, WA, RIM, MT, TJ, SC, SGU, CC, UF), 4 Trinitario sélectionnés en Asie (WA, LAFI, DR, G), 12 Trinitario sélectionnés en Afrique (SNK, IFC, N, W, ACU, K), 10 Refractario (EQX, MOQ), 2 Nacional.

Analyses enzymatiques

Les méthodes utilisées ainsi que le déterminisme génétique et les protocoles d'extraction et de révélation sont indiqués dans LANAUD (1986a). Dans les analyses de LANAUD (1987), 6 systèmes enzymatiques (PGI, PGM, ADH, MDH, PAC, ICD) polymorphes, correspondant à 9 locus, ont été utilisés. Les analyses de SOUNIGO *et al.* (1996) ont porté sur 5 systèmes enzymatiques (PGI, ADH, MDH, PAC, ICD) polymorphes, correspondant à 6 locus.

Analyses par RFLP

Une banque génomique et une banque d'ADNc ont été construites. Entre 31 et 50 de ces sondes, pour la plupart cartographiées (LANAUD *et al.*, 1995), ont été utilisées pour étudier la diversité nucléaire. Le niveau d'hétérozygotie des clones a été déterminé à

l'aide de marqueurs cartographiés dont le déterminisme génétique est connu. Par ailleurs, des sondes hétérologues ont été mises en œuvre pour étudier la diversité cytoplasmique (mitochondriale et chloroplastique). Les protocoles sont décrits dans LAURENT *et al.* (1993a ; 1993b ; 1994).

Analyses par RAPD

Après une sélection sévère des amorces issues des kits Operon qui génèrent des bandes reproductibles, 19 amorces produisant 49 bandes polymorphes ont été utilisées pour analyser la diversité (N'GORAN *et al.*, 1994). La nature — séquence unique ou répétée — des bandes RAPD observées a été testée par hybridation Southern sur de l'ADN total de cacaoyer restreint par des enzymes de restriction.

Analyses des données

Plusieurs paramètres génétiques de la diversité ont été calculés sur les données enzymatiques et moléculaires : pourcentage de locus polymorphes, pourcentage d'hétérozygotie, nombre moyen d'allèles par locus, indice de diversité de Shannon fondé sur les fréquences génotypiques, indice de diversité de Nei (NEI, 1978) fondé sur les fréquences alléliques.

A partir des indices de Nei et de Shannon, la diversité totale a été décomposée en diversité intrapopulation et diversité interpopulation selon les formules :

$$H_{intrapop} = H_{pop} / H_{total}$$

$$H_{interpop} = (H_{total} - H_{pop}) / H_{total}$$

Des analyses multivariées — analyses factorielles des correspondances, AFC (BENZECRI, 1973), ou analyses en composantes principales, ACP, pour les caractères quantitatifs — ont été généralement effectuées pour toutes les données.

Pour les données enzymatiques, les distances génétiques de Nei sur les fréquences alléliques ont été utilisées pour mesurer les distances entre populations. Une classification ascendante hiérarchique, CAH, a été construite selon la méthode UPGMA.

Pour les données RAPD (N'GORAN *et al.*, 1994), une CAH a été construite à partir des coordonnées des clones sur les sept premiers axes de l'AFC.

Pour les données RAPD de SOUNIGO *et al.* (1996), les distances de Rogers et Tanimoto ont été calculées, et un arbre a été construit selon la méthode du *neighbor joining*.

Références bibliographiques

ALLEN J.B., LASS R.A., 1983. London cocoa trade Amazon project: final report, phase 1. Cocoa Grower's Bulletin, 34 : 1-71.

AMEFIA Y.K., 1986. Sur le polymorphisme enzymatique des cacaoyers introduits au Togo. Thèse de doctorat, INA, Paris-Grignon, France, 146 p.

ATKINSON M.D., WITHERS L.A., SIMPSON M.J.A., 1986. Characterisation of cacao germplasm using isoenzyme markers. 1. A preliminary survey of diversity using starch gel electrophoresis and standardisation of the procedure. Euphytica, 35 : 741-750.

BARRIGA J.P., MACHADO P.R.F., DE ALMEIDA C.M.V.C., DE ALMEIDA C.F.G., 1984. A preservação e utilização dos recursos genéticos de cacau na Amazônia brasileira. *In :* IXe conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Lagos, Nigeria, Cocoa Producers' Alliance, p. 73-79.

BARTLEY B.G., 1979. Global concepts for genetic resources and breeding in cacao. *In :* VIIe conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Lagos, Nigeria, Cocoa Producers' Alliance, p. 519-525.

BEKELE F.L., 1992. Use of botanical descriptors for cocoa characterization: CRU experiences. *In :* International workshop on conservation, characterisation and utilisation of cocoa genetic resources in the 21st century. Port of Spain, Trinité-et-Tobago, CRU, p. 77-91.

BEKELE F., BEKELE I., 1998. A sampling of the phenetic diversity of cacao in the international cocoa gene bank of Trinidad. Crop Science, 36 : 57-64.

BEKELE F.L., KENNEDY A.J., MCDAVID C., LAUCKNER B., BEKELE I., 1994. Numerical taxonomic studies on cacao (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad. Euphytica, 75 : 231-240.

BENZECRI J.P., 1973. L'analyse des données. 2. L'analyse des correspondances. Paris, France, Dunod, 616 p.

BERGMAN J.F., 1969. The distribution of cacao cultivation in pre-Columbian America. Annals of the Association of American Geographers, 59 : 85-96.

BERNOULLI G., 1869. Ubersicht der bis jetzt bekannten Arten von *Theobroma*. Neue Denkschriften der allgemeinen schweizerischen Gesellschaft für die gesammten Naturwissenschaften, 24 : 1-15.

BOUHARMONT J., 1960. Recherches cytologiques sur la fructification et l'incompatibilité chez *Theobroma cacao* L. INEAC, Série scientifique n° 89, 117 p.

BRAUDEAU J., 1969. Le cacaoyer. Paris, France, Maisonneuve et Larose, 304 p.

BURLE L., 1952. La production du cacao en Afrique occidentale française. Centre de recherches agronomiques de Bingerville, Bulletin n° 5, p. 3-21.

CHALMERS W.S., 1968. Cacao collecting trip to the Oriente of Ecuador (November 1968). Port of Spain, Trinité-et-Tobago, CRU, 4 p.

CHEESMAN E.E., 1944. Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cacao populations. Tropical Agriculture, 21 : 144-159.

CHEVALIER A., 1946. Révision du genre *Theobroma* d'après l'herbier du Muséum national d'histoire naturelle de Paris. Revue de botanique appliquée, 26 : 265-285.

CLEMENT D., 1986. Cacaoyers de Guyane : prospections. Café, cacao, thé, 30 : 11-35.

COE S.D., COE M.D., 1996. The true history of chocolate. Londres, Royaume-Uni, Thames and Hudson, 280 p.

COPE F.W., 1962. The mechanism of pollen incompatibility in *Theobroma cacao*. Heredity, 17 : 157-182.

DE LA CRUZ M., WHITKUS R., GOMEZ-POMPA A., MOTA-BRAVO L., 1995. Origins of cacao cultivation. Nature, 375 : 542-543.

CUATRECASAS J., 1964. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Contributions from the United States Herbarium, 35 : 379-614.

END M.J., WADSWORTH R.M., HADLEY P., 1992. The international cocoa germplasm database. *In :* International workshop on conservation, characterisation and utilisation of cocoa genetic resources in the 21st century. Port of Spain, Trinité-et-Tobago, CRU, p. 48-52.

ENGELS J.M.M., 1983a. A systematic description of cacao clones. 1. The discriminative value of quantitative characteristics. Euphytica, 32 : 377-385.

ENGELS J.M.M., 1983b. A systematic description of cacao clones. 2. The discriminative value of qualitative characteristics and the practical compatibility of the discriminative value of quantitative and qualitative descriptors. Euphytica, 32 : 719-733.

ENGELS J.M.M., 1986. The systematic description of cacao clones and its significance for taxonomy and plant breeding. Thèse PhD, Agricultural University, Wageningen, Pays-Bas, 125 p.

ENGELS J.M.M., BARTLEY B.G.D., ENRIQUEZ G.A., 1980. Cacao descriptors their states and modus operanti. Turrialba, 30 : 209-218.

ENRIQUEZ G.A., 1985. Cursos sobre el cultivo del cacao. Turrialba, Costa Rica, CATIE, Serie Materiales de Enseñanza, nº 22, 239 p.

ENRIQUEZ G.A., 1992. Characteristics of cacao Nacional of Ecuador. *In :* International workshop on conservation, characterisation and utilisation of cocoa genetic resources in the 21st century. Port of Spain, Trinité-et-Tobago, CRU, p. 269-278.

ENRIQUEZ G.A., SORIA J., 1968. The variability of certain bean characteristics of cacao (*Theobroma cacao* L.). Euphytica, 17 : 114-120.

FIGUEIRA A., JANICK J., GOLDSBROUGH P., 1992. Genome size and DNA polymorphism in *Theobroma cacao*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 117 : 673-677.

FIGUEIRA A., JANICK J., LEVY M., GOLDSBROUGH P., 1994. Re-examining the classification of *Theobroma cacao* L. using molecular markers. Journal of the American Society for Horticultural Science, 119 : 1073-1082.

GLENDINNING D.R., 1966. The incompatibility alleles of cocoa: report for the period 1st October 1963-31st March 1965. Ghana, Cocoa Research Institute.

GUISAN, 1825. De la culture du cacaoyer. *In :* Traité sur les terres noyées de Guyane (2e éd.). Imprimerie du Roy, p. 170-189.

HAMRICK J.L., GODT M.J.W., 1990. Allozyme variation in plant species. *In :* Plant population genetics, breeding, and genetic resources, A.H.D. Brown *et al.* éd., Sunderland, Etats-Unis, Sinauer, p. 43-63.

HAMRICK J.L., GODT M.J.W., SHERMAN-BROYLES S.L., 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forests, 6 : 95-124.

IBPGR, 1981. Report of the IBPGR working group on genetic resources of cocoa. Rome, Italie, IBPGR, ACP-IBPGR/80/56, 28 p.

KNIGHT R., ROGERS H., 1955. Incompatibility in *Theobroma cacao.* Heredity, 9 : 67-69.

LACHENAUD P., SALLEE S., 1993. Les cacaoyers spontanés de Guyane : localisation, écologie et morphologie. Café, cacao, thé, 37 : 101-114.

LANAUD C., 1986a. Utilisation des marqueurs enzymatiques pour l'étude génétique du cacaoyer *Theobroma cacao* L. 1. Contrôle génétique et linkage de neuf marqueurs enzymatiques. Café, cacao, thé, 30 : 259-270.

LANAUD C., 1986b. Utilisation des marqueurs enzymatiques pour l'étude génétique du cacaoyer *Theobroma cacao* L. 2. Etude du polymorphisme de six systèmes enzymatiques. Café, cacao, thé, 30 : 271-280.

LANAUD C., 1987. Nouvelles données sur la biologie du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) : diversité des populations, systèmes d'incompatibilité, haploïdes spontanés ; leurs conséquences pour l'amélioration génétique de cette espèce. Thèse de doctorat, université Paris XI, Orsay, France, 106 p.

LANAUD C., BERTAUD J., 1984. Mise en évidence de nouveaux marqueurs génétiques chez *Theobroma cacao* L. par les techniques d'électrophorèse. *In :* IXe conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Lagos, Nigeria, Cocoa Producers' Alliance, p. 249-253.

LANAUD C., HAMON P., DUPERRAY C., 1992. Estimation of nuclear DNA content of *Theobroma cacao* L. by flow cytometry. Café, cacao, thé, 36 : 3-8.

LANAUD C., RISTERUCCI A.M., N'GORAN A.K.J., CLEMENT D., FLAMENT M.H., LAURENT V., FALQUE M., 1995. A genetic linkage map of *Theobroma cacao* L. Theoretical and Applied Genetics, 91 : 987-993.

LAURENT V., RISTERUCCI A.M., LANAUD C., 1993a. Variability for nuclear ribosomal genes within *Theobroma cacao.* Heredity, 71 : 96-103.

LAURENT V., RISTERUCCI A.M., LANAUD C., 1993b. Chloroplast and mitochondrial DNA diversity in *Theobroma cacao.* Theoretical and Applied Genetics, 87 : 81-88.

LAURENT V., RISTERUCCI A.M., LANAUD C., 1994. Genetic diversity in cacao revealed by cDNA probes. Theoretical and Applied Genetics, 88 : 193-198.

LECOMTE H., CHALLOT C., 1897. Le cacaoyer et sa culture. Paris, France, Carré et Naud, 121 p.

LERCETEAU E., ROBERT T., PETIARD V., CROUZILLAT D., 1997. Evaluation of the extent of genetic variability among *Theobroma cacao* accessions using RAPD and RFLP markers. Theoretical and Applied Genetics, 95 : 10-19.

LOCKWOOD G., END M., 1992. History, technique and future needs for cacao collection. *In :* International workshop on conservation, characterisation and utilisation of cocoa genetic resources in the 21st century. Port of Spain, Trinité-et-Tobago, CRU, p. 1-14.

MORRIS D., 1882. Cacao: how to grow and how to cure it. Jamaica, p. 1-45.

MOTAMAYOR J.C., RISTERUCCI A.M., LAURENT V., MORENO A., LANAUD C., 1997. The genetic diversity of Criollo cacao and the consequences for quality breeding. *In :* I° congreso venezolano del cacao y su industria. Aragua, Venezuela.

MYERS J.G., 1930. Notes on wild cacao in Surinam and in British Guiana. Kew Bulletin, 1 : 1-10.

NEI M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89 : 583-590.

N'GORAN J.A.K., 1994. Contribution à l'étude génétique du cacaoyer par les marqueurs moléculaires : diversité génétique et recherche de QTLs. Thèse de doctorat, université Montpellier II, Montpellier, France, 131 p.

N'GORAN J.A.K., LAURENT V., RISTERUCCI A.M., LANAUD C., 1994. Comparative genetic diversity of *Theobroma cacao* L. using RFLP and RAPD markers. Heredity, 73 : 589-597.

OCAMPO R.F., 1985. Informe sobre recolección de germoplasma de *Theobroma cacao* L. El Cacaotero Colombiano, 31 : 24-29.

PARADIS L., 1979. Le cacao précolombien : monnaie d'échange et breuvage des dieux. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 26 : 3-4.

PITTIER H., 1930. A propos des cacaoyers spontanés. Revue de botanique appliquée, 10 : 777.

PITTIER H., 1933. Degeneration of cacao throught natural hybridization. Journal of Heredity, 36 : 385-90.

POUND F.J., 1938. Cocoa and witches' broom disease *(Marasmius perniciosus)* of South America with notes on other species of *Theobroma*. Port of Spain, Trinité-et-Tobago, Yuille's Printery.

POUND F.J., 1943. Cocoa and witches' broom disease: report on a recent visit to the Amazon territory of Peru. *In :* The archives of cocoa research, volume 1, H. Toxopeus éd., Londres, Royaume-Uni, ACRI-IOCC.

RABOUIN L.M., PAULIN D., 1993. Etude de l'héritabilité de descripteurs floraux. *In :* XIe conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Lagos, Nigeria, Cocoa Producers' Alliance, p. 449-450.

REYES H., 1992. Criollo cacao germplasm in Venezuela. *In :* International workshop on conservation, characterisation and utilisation of cocoa genetic resources in the 21st century. Port of Spain, Trinité-et-Tobago, CRU.

RISTERUCCI A.M., LANAUD C., N'GORAN J.A.K., PIERETTI I., 1996. A saturated linkage map of *Theobroma cacao*. *In :* XIIe conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Lagos, Nigeria, Cocoa Producers' Alliance.

RONNING C.M., SCHNELL R.J., 1994. Allozyme diversity in a germplasm collection of *Theobroma cacao* L. Journal of Heredity, 85 : 291-295.

RONNING C.M., SCHNELL R.J., KUHN D.N., 1995. Inheritance of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in *Theobroma cacao* L. Journal of the American Society for Horticultural Science, 120 : 681-686.

RUSSEL J.R., HOSEIN F., WAUGH R., POWELL W., 1993. Genetic differentiation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) populations revealed by RAPD analysis. Molecular Ecology, 2 : 89-97.

SALLEE B., 1987. Compte rendu de prospection dans les populations naturelles de *Theobroma cacao* L. du Haut Camopi (Guyane française). Kourou, Guyane, Cirad, 45 p.

SCHUMANN K., 1886. Fam. Sterculiaceae g. *Theobroma. In :* Flora brasiliensis, volume XII, part III, p. 70-77.

SIMPSON B.B., HAFFER J., 1978. Speciation patterns in the Amazonian forest biota. Annual Review of Ecology and Systematics, 9 : 497-518.

SORIA J., 1970a. Principal varieties of cocoa cultivated in tropical America. Cocoa Growers' Bulletin, n° 19 : 12-21.

SORIA J., 1970b. The present status and perspectives for cocoa cultivars in Latin America. Proceedings of the Tropical Region American Society for Horticultural Science, 14.

SORIA J., 1973. Survey of crop genetics resources in their centers of diversity: first report. Rome, Italie, FAO, p. 119-125.

SORIA J., ENRIQUEZ G.A., 1981. International cacao cultivar catalogue. Turrialba, Costa Rica, CATIE, Technical Series, Technical Bulletin n° 6, 156 p.

SOUNIGO O., CHRISTOPHER Y., UMAHARAN R., 1996. Genetic diversity assessment of *Theobroma cacao* L. using isoenzyme and RAPD analyses. *In :* Annual report 1996, CRU. Port of Spain, Trinité-et-Tobago, CRU, p. 35-51.

TOXOPEUS H., 1985. Botany, types and populations in cocoa. *In :* Cocoa (4th ed.), G.A.R. Wood et R.A. Lass éd., Londres, Royaume-Uni, Longman, p. 11-37.

WARREN J.M., 1994. Isozyme variation in a number of populations of *Theobroma cacao* L. obtained through various sampling regimes. Euphytica, 72 : 121-126.

WHITKUS R., DE LA CRUZ M., MOTA-BRAVO L., 1998. Genetic diversity and relationships of cacao (*Theobroma cacao* L.) in southern Mexico. Theoretical and Applied Genetics, 96 : 621-627.

WILDE J., WAUGH R., POWELL W., 1992. Genetic fingerprinting of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. Theoretical and Applied Genetics, 83 : 871-877.

WOOD G.A.R., 1991. A history of early cocoa introductions. Cocoa Growers' Bulletin, 44 : 7-12.

YEOH H.H., CHUNG D.K., FRITZ P.J., 1990. *Theobroma cacao* chloroplast DNA: isolation, molecular cloning and characterization. Café, cacao, thé, 34 : 173-178.

YIDANA J.A., KENNEDY A.J., WITHERS L.A., 1987. Variation in peroxidase isozymes of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *In :* X^{e} conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Lagos, Nigeria, Cocoa Producers' Alliance, p. 719-723.

YOUNG A.M., 1994. The chocolate tree: a natural history of cacao. Washington, Etats-Unis, Smithsonian Institution Press, 200 p.